HAL
open science

Contribution du métabolisme de l'ABA et de la conductivité hydraulique à la réponse de la transpiration en situation de contrainte hydrique chez la Vigne : variabilité génétique et effets du greffage

Landry Rossdeutsch

To cite this version:

Landry Rossdeutsch. Contribution du métabolisme de l'ABA et de la conductivité hydraulique à la réponse de la transpiration en situation de contrainte hydrique chez la Vigne : variabilité génétique et effets du greffage. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : . tel-02797005

HAL Id: tel-02797005

https://hal.inrae.fr/tel-02797005v1

Submitted on 5 Jun 2020

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

SCIENCE DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

SPÉCIALITÉ BIOLOGIE VÉGÉTALE

Par Landry ROSSDEUTSCH

Contribution du métabolisme de l'ABA et de la conductivité hydraulique à la réponse de la transpiration en situation de contrainte hydrique chez la Vigne
- Variabilité génétique et effets du greffage -

Sous la direction de : Nathalie OLLAT

Soutenue le 14 décembre 2015

Membres du jury :

Président

M. SIMONNEAU, Thierry	Directeur de Recherche à l'INRA (Montpellier)	Rapporteur
M.CRAMER, Grant	Professeur à l'Université de Reno (USA)	Rapporteur
M. DOMEC, Jean-Christophe	Professeur à Bordeaux Science Agro (Bordeaux)	Examinateur
M. LOVISOLO, Claudio	Professeur à l'Université de Turin. (Italie)	Examinateur
M. DELROT, Serge	Professeur à l'Université de Bordeaux	Examinateur
M. LEBON, Eric	Ingénieur de recherche à l'INRA (Montpellier)	Examinateur
Mme OLLAT, Nathalie	Ingénieur de recherche à l'INRA (Bordeaux)	Directrice de thèse

Contribution du métabolisme de l'ABA et de la conductivité hydraulique à la réponse de la transpiration en situation de contrainte hydrique chez la Vigne

- Variabilité génétique et effets du greffage -

Dans le contexte de changement climatique, la compréhension des mécanismes régissant les pertes en eau de la vigne peut permettre d'adapter le matériel végétal pour maintenir la productivité de la vigne et la qualité du vin. L'adaptation à la sécheresse est un caractère complexe faisant intervenir des mécanismes physiologiques liés aux génotypes du greffon et du porte-greffe. Mais les effets du porte-greffe sur la régulation stomatique du greffon sont mal connus. La production par les racines de signaux chimiques tels que l'ABA et/ou hydraulique pourraient y contribuer. La réponse physiologique et moléculaire à la contrainte hydrique a été analysée sur de jeunes boutures pour 7 porte-greffes plus ou moins adaptés à la sécheresse et 2 cépages connus pour leur caractère iso ou anisohydrique. Puis 23 combinaisons greffon/porte-greffe issues de ces génotypes ont été étudiées. Une analyse métabolique sur l'accumulation de l'ABA et ses dérivés a été menée sur feuilles, racines et dans la sève xylémienne. Ces informations ont été couplées à des analyses transcriptomiques sur des gènes du métabolisme et de la signalisation de ABA, et codant des aquaporines de type PIP. L'analyse conjointe des données physiologiques, métabolomiques et transcriptomiques ont permis d'identifier des composants moléculaires discriminant les porte-greffes selon leur fond génétique et leur adaptation à la sécheresse. Les réponses globales à la contrainte hydrique sont mieux coordonnées au sein d'un même tissu qu'entre racines et feuilles. A l'échelle de la plante greffée, une prépondérance du signal hydraulique est probable. Certains gènes répondent spécifiquement aux interactions greffon/porte-greffe.

Mots clefs : ABA, ABA-metabolites, Conductance hydraulique, Conductance stomatique, Déficit hydrique, Expression de gènes, PIP aquaporines, Porte-greffe, Signalisation, Variabilité génétique, Vigne.

Contribution of the ABA metabolism and hydraulic properties to the response of transpiration to water deficit in grapevine (*Vitis spp*).

- Genetic variability and effects of grafting -

In the context of climate change, understanding the mechanisms governing the water loss of the vine is necessary to adapt the plant material to maintain the productivity of the vine and wine quality. The adaptation to drought is a complex trait involving physiological mechanisms related to scion and rootstock genotypes. But the effects of the rootstock on stomatal regulation graft are still unknown. Production by roots of chemical signals such as ABA and / or hydraulic ones be involved. Molecular and physiological responses to water stress were analyzed on young cuttings for 7 rootstocks more or less adapted to drought and 2 varieties known for their iso or anisohydric behaviour. Then 23 combinations scion / rootstock from these genotypes were investigated. Metabolic analyses for ABA and its derivatives was conducted in leaves, roots and in the xylem sap. The information was integrated with transcriptomic analyzes for genes involved in ABA metabolism and signaling, and encoding PIP aquaporins. Joint analyses of physiological data, metabolomic and transcriptomic allow the identification of the molecular components discriminating rootstocks according to their genetic background and their adaptation to drought. Global responses to water stress are better coordinated within the same tissue between roots and leaves. At the scale of the grafted plant, a preponderance of the hydraulic signal is likely. Some genes specifically respond to the scion / rootstock interactions.

Key words : ABA, ABA-metabolites, Genes expression, Genetic variability, Grapevine, Hydraulic conductance, PIP aquaporins, Rootstock, Signalisation, Stomatal conductance, Water deficit.

Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne, n°1287, ISVV, 210 chemin de Leysotte, 33882 Villenave d'Ornon

Remerciement

Ce manuscrit est l'aboutissement d'un travail d'équipe établi au sein du laboratoire EGFV. Les nombreux échantillons prélevés, les analyses effectuées ainsi que la gestion du matériel végétal n'auraient clairement pu être l'œuvre d'une seule personne. La dynamique installée au sein du laboratoire où chacun des membres est prêt à donner de son temps pour parfaire le projet d'un étudiant est vraiment extraordinaire et je tiens sincèrement à les remercier.

Je tiens en particulier à remercier Jean-Pierre PETIT, Bernard DOUENS et Louis BORDENAVE qui se sont coordonnés pour me fournir des plants sains et à réaliser la gestion sans encombre des 23 combinaisons greffon/porte-greffe étudiées.

Le travail de thèse est également parsemé de difficultés mais la gentillesse de chacun m'a permis d'aller au bout. Je me rappellerai toujours du regard encourageant de Jean-Pascal TANDONNET ou encore du petit sourire en coin de Philipe VIVIN me disant que tout se passerait bien. Le positivisme de Virginie LAUVERGEAT m'a également beaucoup aidé dans les moments de doute.

Au niveau scientifique j'ai eu la chance d'être entouré de gens compétents et investis notamment dans la rédaction de l'article présenté. Un gros travail d'équipe avec des personnalités extérieures telles que Everard EDWARDS ou Grant CRAMER, ou en interne avec Sarah-Jane COOCKSON, Elisa MARGUERIT, Grégory GAMBETTA, Serge DELROT et bien sûr Nathalie OLLAT m'a permis d'aller au delà du simple travail d'analyse. La réflexion menée m'a également encouragé à parfaire mon avenir dans le monde de la recherche. Je tiens à remercier une deuxième fois Everard EDWARDS pour la rapidité des analyses effectuées par ses soins.

Au niveau personnel, malgré la distance, mes parents, ma sœur et mes amis d'enfance de Nouvelle-Calédonie ont été d'un soutien particulier, m'encourageant sans cesse à poursuivre mon projet. L'ensemble de mes amis, notamment les membres de la "colloc du manoir", ou encore le petit groupe de slackliner et les thésards actuels et anciens, m'ont permis à la fois de décompresser et de prendre du recul sur mon travail.

Finalement je tiens en particulier à remercier Nathalie pour sa rigueur scientifique, mais aussi pour sa capacité d'encadrement qui m'ont permis d'évoluer tout au long de la thèse. Elle a également été là pour m'encourager et me pousser à aller plus loin sur de nombreux paramètres. Cet apprentissage me parait crucial dans la poursuite de mon projet professionnel, merci !

Je tiens également à remercier chacun des membres du jury pour avoir acceptée la lecture de ce travail.

Sommaire

Abréviations **6**
Liste des figures **8**
Liste des tables **11**
Liste des figures supplémentaires **12**

Introduction générale **14**

Chapitre 1 : Etude bibliographique **20**
I- Diversité génétique de la vigne 20
I-1. Généralités 20
I-2. Utilisations des porte-greffes dans la viticulture 41
I-3. Diversité génétique des porte-greffes 23
II- Les réponses des plantes à la contrainte hydrique 24
II-1. Généralités 24
II-2. Le contrôle de l'ouverture stomatique 25
II-3. L'efficience de l'eau 26
III- Les signaux chimiques intervenant dans le contrôle de la fermeture stomatique 27
III-1. Biosynthèse et catabolisme de l'ABA 27
III-2. Remobilisation de l'ABA à l'échelle de la plante 28
III-3. Sources de l'ABA contribuant au contrôle stomatique 29
III-4. Transduction du signal ABA 30
III-5. Les autres signaux chimiques 61
IV- La composante hydraulique 32
IV-1 Architecture hydraulique de la plante 32
IV-2 Méthodes de mesure 35
V- Les aquaporines 36
V-1 Structure des aquaporines 37
V-2 Régulation de l'activité des aquaporines 38
V-2.1. Régulation transcriptionnelle 38
V-2.2. Régulation post-traductionnelle 39
V-3. Rôle des aquaporines dans la régulation de la transpiration en déficit hydrique 40

Chapitre 2 : Variation in ABA metabolism and signalling among different grapevine genotypes in response to water-deficit 42
I- Introduction 44
II- Material and methods 47
II-1. Plant material and water-deficit treatments 47
II-2. Determination of water potential and xylem sap collection 48
II-3. Analysis of ABA and its derivatives 48
II-4. RNA extraction and qPCR 49
II-5. Statistical analyses 49
III- Results 50
III-1. Genotype-specific transpiration responses to water-deficit 50
III-2. Genotype-specific differences in ABA metabolism for non-stressed and water-stressed plants 51
III-3. Changes of [ABA], [PA], and [DPA] with plant water status 52
III-4. Effects of water-deficit on transcript abundance of ABA related genes 54
III-5. Multi-factorial analyses of genotype-specific responses to water-deficit 56
IV- Discussion 57
IV-1. Responses to water-deficit are common to the genotypes studied 57
IV-2. Genotype-specific responses are associated with their genetic background 60
V- Supplementary Data 62

Chapitre 3 : Conductivité hydrauliqueet expression des aquaporines 73
I- Introduction 73
II- Matériel et méthodes 76
II-1. Matériel végétal et conditions de cultures 76
II-2. Mesures des paramètres hydrauliques 76
II-2.1. Définitions 76
II-2.2. Description du système HPFM de mesure de la conductance hydraulique 77
II-2.3. Mise en œuvre des mesures 77
II-3. Extraction d'ARN et RT-PCR 79
II-4. Analyses statistiques 79
III- Résultats 80
III-1. Caractéristiques morphologiques des plantes utilisées pour la détermination des propriétés hydrauliques 80
III-2. Propriétés hydrauliques des différents génotypes 81
III-2.1. Conductance et conductivité des parties aériennes 81
III-2.2. Conductance et conductivité des parties racinaires 81
III-2.3. Conductance de la plante entière 82

III-3. Expression et régulation des différentes isoformes d'aquaporines sous l'effet d'une contrainte hydrique 84
III-3.1. Expression des gènes en situation non contrainte 84
III-3.2. Expression des gènes en situation de contrainte hydrique 85
III-3.3. Analyse factorielle discriminante sur les données d'expression des gènes codant différentes aquaporines au cours de l'application de la contrainte hydrique 86
III-4. Analyse conjointe des données d'expression des gènes codant des aquaporines et ceux impliqués dans le métabolisme et la transduction du signal ABA. 87
IV-Discussion 88
VI-1. Les caractéristiques hydrauliques des différents génotypes étudiés 88
IV-2. Part du transport hydrique liée à l'activité des aquaporines 89
IV-3. Profil d'expression des aquaporines en conditions non contraintes 90
IV-4. Profils d'expression en conditions de contrainte hydrique 92
IV-5. Aquaporines et signalisation ABA 94
V- Conclusions 97
VI- Données supplémentaires 98

Chapitre 4 : Effet du greffage sur la régulation des flux transpiratoires en situation de déficit hydrique 104
I- Introduction 104
II- Matériel et méthodes 107
II-1. Matériel végétal 107
II-2. Stratégie expérimentale 108
II-3. Contrôle du statut hydrique du substrat 109
II-4. Traitements hydriques appliqués 109
II-5. Détermination de la transpiration journalière 110
II-6. Mesure de conductance hydraulique 110
II-7. Mesure de conductance stomatique 111
II-8. Prélèvements des échantillons 111
II-9. Dosage hormonaux (ABA, PA, DPA et ABA-GE) 112
II-10. Analyses statistiques 112
III- Résultats 113
III-1. Présentation générale des trois expérimentations 113
III-1.1. Conditions climatiques 113
III-1.2. Evolution de la teneur en eau du substrat 114
III-1.3. Surface foliaire 115
III-1.4. Transpiration de la plante entière 116

III-2. Caractéristiques transpiratoire des plantes le jour des prélèvements 117
III-2.1. Potentiel hydrique de base 117
III-2.2. Potentiel hydrique de tige 118
III-2-3. La transpiration des plantes entières par combinaison 119
III-2.4. La conductance hydraulique 120
III-2-5. Analyse des échanges gazeux des feuilles.....241
III-3. Analyses des composés liés au métabolisme de l'ABA.....123
III-3.1. Situation non contrainte 123
III-3.1.1. Présentation globale des métabolites 123
III-3.1.2. Analyses factorielles discriminantes.....124
III-3.2. Situation de déficit hydrique.....126
III-3.2.1. Présentation globale.....126
III-3.2.2. Analyses factorielles discriminantes.....127
III-2.3. Analyse globale des métabolites.....129
IV- Discussion..... 130
IV-1. Réponse générale des combinaisons au traitement hydrique 130
IV-2. Réponse de la transpiration à la contrainte hydrique pour les combinaisons SY/SY et GR/GR.....131
IV-3. La réponse transpiratoire des autres combinaisons.....132
IV-4. Régulation des métabolites liées à l'ABA 134
V- Conclusions..... 136
VI- Données supplémentaires 137

Chapitre 5 : Effet du greffage sur les déterminants moléculaires de la régulation du flux transpiratoire..... 148
I- Introduction 148
II- Matériel et méthodes 150
II-1. Extraction d'ARN totaux et RT-PCR 150
II-2. Analyses statistiques.....150
III- Résultats..... 151
III-1. Analyses transcriptomiques liées au métabolisme et à la signalisation de l'ABA.....151
III-1.1. Situation non contrainte 301
III-3.1.1. Présentation globale du niveau de transcrits 301
III-3.1.2. Analyses factorielles discriminantes.....301
III-1.2. Situation de déficit hydrique.....153
III-1.2.1. Présentation globale du niveau de transcrits 153
III-1.2.2. Analyses factorielles discriminantes.....154
III-1.3. Analyse globale des transcrits liés à l'ABA 155
III-1.4. Conclusion sur l'étude transcriptomique lié au métabolisme et à la signalisation de l'ABA.....157

III-2. Analyses transcriptomiques liées aux aquaporines 158
III-2.1. Situation non contrainte 158
III-2.1.1. Présentation globale du niveau de transcrits 158
III-2.1.2. Analyses factorielles discriminantes 159
III-2.2. Situation de déficit hydrique 161
III-4.2.1. Présentation globale du niveau de transcrits 161
III-2.2.2. Analyses factorielles discriminantes 162
IV- Discussion 163
IV-1. Effet du déficit hydrique sur la régulation transcriptomique des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA 163
IV-2. Coordination racines –feuilles pour la régulation des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA au niveau de la plante greffée 164
IV-3. Effet des génotypes sur la régulation transcriptomique des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA en situation greffée 165
IV-4. Effet du déficit hydrique sur la régulation des gènes *VviPIP1s* et *VviPIP2s* 166
IV-5. L'effet génotype sur l'expression des gènes *VviPIP1s* et *VviPIP2s* 167
IV-6 Rôle de la greffe sur la régulation transcriptomique des aquaporines 168
V- Conclusions 169
VI- Données supplémentaires 170

Discussion et perspectives 186
I- Discussion générale 186
II- Justification des choix méthodologiques 191
III- Perspectives 194

Références bibliographiques 196

Abréviations

ha : hectare

Mhl : millions d'hectolitres

INSEE : Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques

IPCC : Intergovernmental Panel for Climate Change

VPD : vapour pressure deficit ou déficit de pression de vapeur

WUE : water use efficiency ou efficience de l'utilisation de l'eau

ABA : abscisic acid ou acide abscissique

QTL : Quantitative Trait Loci

ACCAF : Adaptation au Changement Climatique des Agrosystèmes et de la Forêt

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

LEA : Late Embryogenesis Abundant

ABA-GE : ABA-glycosyl ester

ABA-GT : ABA-glycosyltransferase

MEP : Méthylérythritol Phosphate

NCED : 9 cis-epoxycarotenoid dioxygenase

AAO3 : abscisic aldehyde oxidase 3

PA : phaseic acid ou acide phaseique

DPA: dihydroxyphaseic acid ou acide dihydroxyphaseique

ABC transporter : ABA Binding Cassette ou Motif de fixation de l'ABA

PP2C : Protein Phosphatase 2C

SnRK : Sucrose nonfermenting Related Kinase

PYR/PYL/RCAR : PYrabactin Resistance1/PYR1-Like/Regulatory Components of ABA Receptors

AREB/ABF : ABA-responsive element binding factors

SLAC : SLow Anion Chanel

KAT : Potassium Anion Transporter

RNA : RiboNucleic Acid

DNA : DeoxiriboNucleic Acid

Ψ : water potential ou potentiel hydrique

Gs : stomatal conductance ou conductance stomatique

A : carbon assimilation ou activité photosynthétique

E : transpiration

A/gs : intrinsic water use efficiency ou efficience de l''eau intrinsèque

SPA : Continuum Soil Plant Atmosphere

Kh : conductance hydraulique

kh : conductivité hydraulique

Rh : résistance hydraulique

EFM : Evaporative Flux Method

HPM : High Pressure Method

VPM : Vacuum Pump Method

HPFM : High Pressure Flow Meter

MIP : Major Intrinsinsic Protein

PIP : Plasma membrane Intrinsinsic Protein

TIP : Tonoplastic Intrinsinsic Protein

NIP : Nodulin26-like Intrinsic membrane Protein

SIP : Small Intrinsic Protein

OST1: Open STomata 1

RT-PCR : Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction

ADNc : ADN complémentaire

ANOVA :Analysis of variance ou Analyse de variance

AFD : Analyse factorielle discriminante

ACP : Analyse en composantes principales

PPFD : Photosynthesic Photon Flux density ou densité de flux de photons photosynthétiquement actifs

SWC : Soil Water Content ou teneur en eau du sol

Tukey HSD : Highly Significant Difference

R^2 : coefficient de détermination

R : coefficient de corrélation

Liste des figures

Figure 1- Major grape producers by type of products (A) and major wine producers (B) in the world.....14
Figure 2- Changes in average air temperature in the world (A) and number of days in dry spells in Europe (B) according to an optimist (left side) and to a pessimistic (right side) scenario for 2081-2100 relative to 1986-2005 (A) and for 2071-2100 relative to 1971-2000 (B). 15

Figure 1.1 - Phylogenetic classification of main Vitis species 20
Figure 1.2- Native habitats of main American Vitis species used for rootstocks breeding.....23
Figure 1.3- Examples of rootstock characteristics.....24
Figure 1.4- Iso- and anisohydric stomatal regulation. 25
Figure 1.5- Storage and degradation pathway of ABA in higher plants.....27
Figure 1.6- Transport model of ABA by ABC transporters.. 28
Figure 1.7- ABA signaling pathway.....30
Figure 1.8- Overview of ABA sensing, signaling and transport.. 31
Figure 1.9- Overview of water and sugar transport and mains hydraulic resistance (R) in plant. Water and sugars move in the plant within the vascular network.. 32
Figure 1.10- Representative structure of plant aquaporin.. 37
Figure 1.11- Schematic representation of aquaporin function and regulation in plant plasma membrane.. 40
Figure 2.1. Physiological responses of nine grapevine genotypes to water-deficit. 50
Figure 2.2. Relationships between water potential and the accumulation of abscisic acid (ABA) (A, B), phaseic acid (C, D) and dihydroxyphaseic acid (D, E) in root (A, C & E) and shoot (B, D & F) xylem sap during a four day water-deficit treatment in nine grapevine genotypes. 52
Figure 2.3. Relationship between the change from day 1 to day 4 after withholding irrigation in abscisic acid (ABA) concentration in the shoot sap and transpiration (A) and shoot water potential (B) for nine grapevine genotypes 53
Figure 2.4. Heatmaps of the transcript abundance for genes associated with abscisic acid in the leaves and roots of nine grapevine genotypes during a water-deficit treatment.....54
Figure 2.5. Factorial discriminant analysis of the transcript abundance for 12 genes associated with ABA 1, 3 and 4 days after withholding irrigation in nine grapevine genotypes with the genotype as qualitative sorting variable.. 56
Figure 2.6. Principal component (PC) analysis of physiological and transcript abundance data of nine grapevine genotypes during a water-deficit treatment. 56
Figure 2.7. Summarized view of ABA-related gene expression, metabolite concentration and transpiration sensitivity to ABA after 4 days of withholding irrigation for the genotypes defined in literature as drought tolerant i.e. *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids (left) and *V. vinifera* (right).....60

Figure 3.1- Experimental design for this experiment in the growth chamber.. 76
Figure 3.2- A : HPFM system (HPFM-Gen3, Dynamax Inc., Houston TX, USA, Tyree et al., 1995) for hydraulic conductance measurements. B : Set-up for the Fenton solution injection to the root system. 77
Figure 3.3- HPFM measurement of total flow (F) under « transient », including the elastic component (Fe), the air bubble artefact (Fb) and the real flow through the organ (Fh).....77
Figure 3.4- Relationship between hydraulic conductance measurements made on root parts with the « Red » and « Yellow » ranges.....78
Figure 3.5- Hydraulic conductance and conductivity of stem - Experiments 1 and 2.....81
Figure 3.6- Hydraulic parameters of the root system and of the whole plant - Experiments 1 and 2.....82
Figure 3.7- Heat maps for transcript abundance of different aquaporin isoforms, 1 day after the last irrigation (A, non-stressed), and the level of expression changes 4 days after the last irrigation (B, water-stressed) for nine grapevine genotypes in the leaves and in root tips (C).. 84
Figure 3.8 –Discriminant function analysis on « Genotype » variable. 86
Figure 3.9- Discriminant function analysis on « Genotype » variable. 87
Figure 3.10 : Tree of similarities between variables established from Pearson correlation coefficients. 87

Figure 4.1- Grafting process.....107
Figure 4.2- Glasshouse balance platform. 109
Figure 4.3- Experimental design. 109
Figure 4.4- Relation between automatical and manual calculation of plant daily transpiration.....110
Figure 4.5- Evolution of the VPD during the three experiments.....113
Figure 4.6- Box plot of the substrate water content (SWC) during the three experiments at 10:00 (just after the daily irrigation).. 114
Figure 4.7- Leaf area per plant after the normalization process at day 0. 115
Figure 4.8- Average plant daily transpiration per day normalized by the plant leaf area for all the combinations for each experiment. 116
Figure 4.9- Predawn water potential recorded for the different sampling days.. 117
Figure 4.10- Stem water potential recorded for the different sampling days.. 118
Figure 4.11- Effect of water treatment on scion/rootstock transpiration for the three experiments. 119
Figure 4.12- Scion/rootstock hydraulic conductance for experiment n°2 (A and B) and n°3 (C and D) in well-watered (A and C) and after three days of water deficit (B and D). 120
Figure 4.13- Stomatal conductance gs (A), carbon assimilation rate A (B), transpiration E (C) and intrinsic water use efficiency A/gs (D) for each scion/rootstock combination in experiment n°1 (n = 3-5). 121
Figure 4.14- Relationships between stomatal conductance gs and predawn (A) and stem (C) water potential.. 122
Figure 4.15- Heat maps for the content (ng mg^{-1} FW) in abscisic acid (ABA), ABA-glucose ester (ABA-GE), phaseic acid (PA) and dihydrophaseic ester (DPA) in the leaves and roots tips of 23 combinations of scion/rootstock in well-watered conditions.. 123
Figure 4.16– Discriminant function analysis on « scion genotype » variable.....124
Figure 4.17– Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. 125

Figure 4.18- Bar chart of abscisic acid (ABA), ABA-glucose ester (ABA-GE), phaseic acid (PA) and dihydrophaseic ester (DPA) content by fresh biomass in the leaves (A, C, E) and roots tips (B, D, F) of the 23 scion/rootstock combinations in water deficit conditions for experiment n°1 (A, B), n°2 (C, D) and n°3 (E, F).....126
Figure 4.19- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable. 127
Figure 4.20 –Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. 128
Figure 4.21- Discriminant function analysis on « scion/rootstock combination » variable. 129
Figure 4.22- Tree of similarities between variables established from Pearson correlation coefficients between ABA-related metabolites in leaves (-L) and in root tips (-R).....129

Figure 5.1- Heat maps of the transcript abundance for the genes associated with abscisic acid (ABA) metabolism in the leaves and roots of 23 scion/rootstock combinations in well-watered conditions.. 151
Figure 5.2- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable.. 152
Figure 5.3- Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable.. 152
Figure 5.4- Heat maps of transcript abundance changes from well-watered to water deficit condition for leaves and root tips.. 153
Figure 5.5- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable.. 154
Figure 5.6- Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable.. 155
Figure 5.7- Principal component analysis on ABA-related genes.....156
Figure 5.8- Tree of similarities between variables established from Pearson correlation coefficients of ABA-related genes in leaves (-L) and root tips (-R). 157
Figure 5.9- Heat maps of the transcript abundance for PIP genes studied in the leaves and roots of 23 combinations of scion/rootstock in well-watered conditions.. 158
Figure 5.10- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable. 159
Figure 5.11- Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. 159
Figure 5.12- Discriminant function analysis on « graft combination » variable. 160
Figure 5.13- Heat maps of the changes in transcript abundance from well-watered to water deficit conditions for leaves and root tips.....161
Figure 5.14- Discriminant function analysis on « graft combination » variable. 162
Figure 5.15 : Tree of similarities between physiological (Green), ABA-related metabolits (Red) and aquaporins (Blue) and ABA-related (Black) genes expression variables established from Pearson correlation coefficients. 164

Liste des tables

Tableau I - Genotypes used in this study, including parentage and drought sensitivity characteristics according to Carbonneau (1985) and Schultz (1996). 19

Table 2.I. Genotypes used in this study, including parentage and drought sensitivity characteristics according to Carbonneau (1985) and Schultz (1996). 47

Table 2.II. Mean of abscisic acid (ABA), phaseic acid (PA) and dihydrophaseic (DPA) in stem and root xylem sap for non-stressed (water potential > -0.2 MPa) and water-stressed (water potential < -0.8 Mpa) plants. 51

Tableau 3.I- Main characteristics of the primers used for RT-PCR (Gambetta et al., 2012).....79

Tableau 3.II- Morphological data collected on the plants used for hydraulic conductance measurements during the experiments 1([a]) and 2([b]). 80

Tableau 3.III : Percentage of inhibition of conductance following Fenton solution application.....83

Tableau 4.I - Genotypes, clone number and supplier for plant material. 107

Tableau 4.II- Presentation of the studied scion/rootstock combinations, their abbreviation in the manuscript and the dates of the three experiments undertaken. 108

Liste des figures supplémentaires

Supplementary Fig. S2.1: Relation between soil water content and root (black circle) and shoot (white circle) water potential.....62
Supplementary Fig. S2.2: Relation between abscisic acid (ABA) (A), phaseic acid (PA) (B) and dihydrophaseic (DPA) (C) content in root and stem xylem sap. 63
Supplementary Fig. S2.3: Relation between phaseic acid (PA) (A & C) or dihydrophaseic (DPA) (B & D) with abscisic acid (ABA) content in stem (A & B) and in root (C & D) xylem sap.....64
Supplementary Table S2.I. Biomass and descriptive data for nine grapevine genotypes. 65
Supplementary Table S2.II. Primer pair sequences used in this study.....66
Supplementary Table S2.III. The transcript abundance of 12 ABA-related genes in the roots and leaves of nine grapevine genotypes on day 1. 67
Supplementary Table S2.IV. The transcript abundance of 12 ABA-related genes in the leaves of nine grapevine genotypes before (day 1) and after (day 4) a drought treatment.....68
Supplementary Table S2.V. The transcript abundance of 12 ABA-related genes in the roots of nine grapevine genotypes before (day 1) and after (day 4) a drought treatment. 69
Supplementary Table S2VI. Pearson correlation matrix of all mean data. 70
Supplementary Table S2.VII. Coordinates of variables from the discriminant analysis of gene expression data (F1, F2, Fig. 2.5) and from principle component analysis of mean transcript abundance and metabolite data (PC1, PC2, Fig. 2.6). 71-72

Figure S3.1- Linear regression of leaf area by scare of leaf length for each genotypes. 98
Tableau S3.I- The transcript abundance of 6 *VviPIPs* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied at day 1.....99
Tableau S3.II- The transcript abundance of 6 *VviPIPs* genes in the leaves of genotypes studied at day 1 and day 4.....100
Tableau S3.III- The transcript abundance of 6 *VviPIPs* genes in the root tips of genotypes studied at day 1 and day 4. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each genes. 101
Tableau S3.IV- Pearson correlation matrice from soil water content (SWC), aquaporins and ABA related genes expression in leaves (-L) and root tips (-R). 102-103

Figure S4.1- Summarized temperature during the three experiments. 137
Figure S4.2- Summarized PAR during the three experiments.. 138
Figure S4.3 – Discriminant function analysis on « scion/rootstock combination » variable. 139
Tableau S4.I- Mean of plant hydraulic conductance for each combination used in well-watered condition and after 3 days of prolonged water deficit for experiment 2 and 3.....140
Tableau S4.II- Mean of transpiration (E), stomatal conductance (gs), carbon assimilation rate (A) and intrinsic water use efficiency (WUE) for the different combinations in experiment n°1. 141
Tableau S4.III- Percentage of changes in transpiration (E), stomatal conductance (gs), carbon assimilation rate (A) and intrinsic water use efficiency (A/gs) for the different combinations in experiment n°1 between well-watered conditions and after 3 days of stopping irrigation or 1 day after rehydratation. 142
Tableau S4.IV- Mean and ANOVA result on scion, rootstock and interaction on ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R).....143

Tableau S4.V- Mean of ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R) of combination studied in experiment n°1 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each metabolites.. 144
Tableau S4.VI- Mean of ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R) of combination studied in experiment n°2 in well-watered and water deficit condition.. 145
Tableau S4.VII- Mean of ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R) of combination studied in experiment n°3 in well-watered and water deficit condition. 146
Tableau S4.VIII- Pearson correlation matrice on soil water content (SWC), predawn and stem Water Potential (WP) and ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R). 147

Tableau S5.I- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°1 in well-watered condition.....170
Tableau S5.II- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°2 in well-watered condition. 171
Tableau S5.III- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°3 in well-watered condition. 172
Tableau S5.IV- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in leaves of genotypes combination studied in experiment n°1 in well-watered and water deficit condition. 173
Tableau S5.V- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in leaves of genotypes combination studied in experiment n°2 in well-watered and water deficit condition……174
Tableau S5.VI- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in leaves of genotypes combination studied in experiment n°3 in well-watered and water deficit condition……175
Tableau S5.VII- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in root tips of genotypes combination studied in experiment n°1 in well-watered and water deficit condition. 176
Tableau S5.VIII- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in root tips of genotypes combination studied in experiment n°2 in well-watered and water deficit condition. 177
Tableau S5.IX- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in root tips of genotypes combination studied in experiment n°3 in well-watered and water deficit condition.. 178
Tableau S5.X- Pearson correlation matrix of all ABA-related genes transcript abundance in well-watered and water deficit treatment, for root tips and leaves for all genotypes.. 179
Tableau S5.XI- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°1 in well-watered condition.....180
Tableau S5.XII- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°2 in well-watered condition.....181
Tableau S5.XIII- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°3 in well-watered condition.....182
Tableau S5.XIV- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°1 in well-watered and in water deficit condition.....183
Tableau S5.XV- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°2 in well-watered and in water deficit condition.....184
Tableau S5.XVI- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°3 in well-watered and in water deficit condition.....185

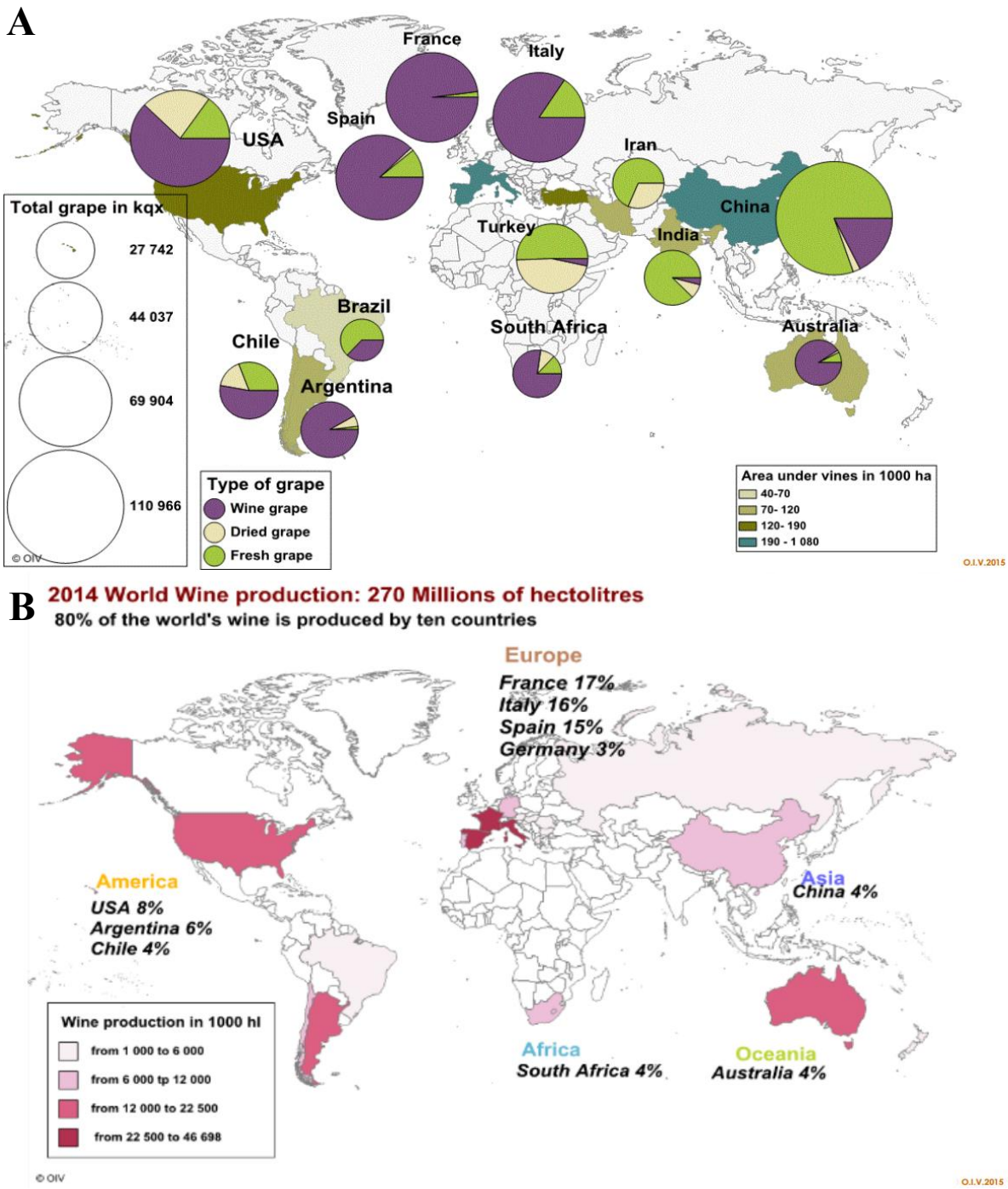


Figure 1- Major grape producers by type of products (A) and major wine producers (B) in the world (From O.I.V., 2015).

Introduction générale

La vigne (*Vitis* spp.) est parmi les cultures fruitières les plus importantes du monde avec plus de 7,5 Millions ha, principalement répartis sur trois continents : l'Europe (54%), l'Asie (24%) et l'Amérique (14%) (Figure 1A). Au total 73,7 Mt de raisins ont été produits en 2014 dont la majorité est utilisée pour élaborer du vin (55%), soit près de 270 Mhl, dont 48% par la France (46,7 Mhl), l'Italie (44,7Mhl) et l'Espagne (38,2 Mhl) (Figure 1B). La France est le 3ème exportateur mondial de vin, et la valeur de production viticole représente 10,63 milliards d'euros, soit 15% de la production agricole totale (INSEE, 2013). En France, seulement 2,6 % de la surface agricole est dédiée à la production de vin, ce qui fait de la culture de la vigne l'une des plus rentables. Mais outre les revenus liés aux exportations de vin, la viticulture est le premier employeur de main d'œuvre agricole (Bastian, 2008) et génère de nombreuses activités touristiques et culturelles. La qualité organoleptique du vin est fortement dépendante de son environnement. A l'avenir, la viticulture devra faire face aux évolutions climatiques et s'adapter afin de maintenir la qualité du vin français à la hauteur de sa renommée (Ollat et Touzard, 2014).

La composition biochimique de la baie de raisin est le facteur déterminant de la qualité du vin produit. Celle-ci dépend de nombreux facteurs, dont le matériel végétal, le greffon et le porte-greffe, les pratiques culturales et l'environnement. La disponibilité en eau est le facteur environnemental affectant le plus fortement la croissance, le développement et la productivité des plantes (Farooq et al., 2009). La vigne ne fait pas exception (Medrano et al., 2003; Chaves et al., 2003). En fonction de sa durée, de son intensité et de la période d'apparition, un manque d'eau peut avoir des effets positifs ou négatifs sur la qualité de la baie. Ainsi, un déficit hydrique modéré appliqué après la véraison est favorable à la qualité de la baie de raisin (Becker et Zimmerman, 1984) alors qu'un déficit hydrique plus sévère affecte négativement la vitesse de croissance et le développement des différents organes de la vigne (Chaves et al., 2010). L'excès d'eau, dû aux précipitations naturelles ou à l'irrigation, favorise la croissance végétative lors du développement de la grappe, ce qui affecte négativement la qualité de la baie en diminuant sa composition en anthocyanes et en sucres (Medrano et al., 2003). Le statut hydrique de la vigne est donc un élément majeur de la qualité du vin produit.

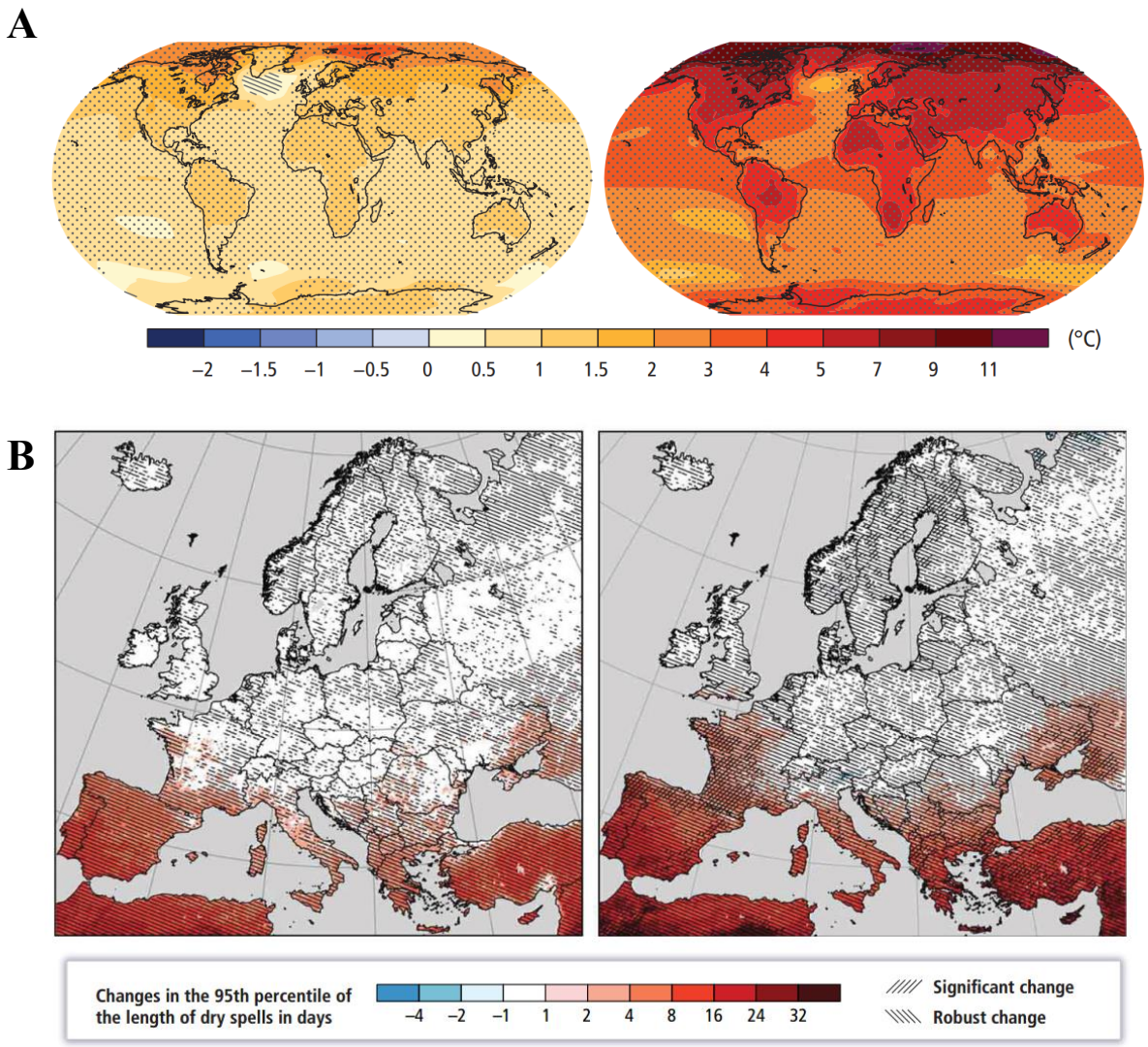


Figure 2- Changes in average air temperature in the world (A) and number of days in dry spells in Europe (B) according to an optimist (left side) and to a pessimistic (right side) scenario for 2081-2100 relative to 1986-2005 (A) and for 2071-2100 relative to 1971-2000 (B) (From IPCC, 2014).

L'émission de gaz à effet de serre due aux activités anthropiques est responsable du changement climatique actuel. En fonction des différents modèles et des émissions futures de gaz à effet de serre, les experts de l'IPCC (groupe d'expert intergouvernemental sur le changement climatique) prédisent une augmentation moyenne de la température de l'air de 1,8 à 4°C d'ici la fin du siècle (IPCC, 2014)(Figure 2A). Le changement climatique serait également associé à des modifications du régime des pluies de manière annuelle mais aussi saisonnière (IPCC, 2013). Ainsi la fréquence des précipitations pourrait augmenter en hiver alors qu'elle diminuerait d'environ 20% au printemps et en été. En Europe notamment, l'association entre la diminution des ressources hydriques du sol disponibles pour les plantes et l'augmentation de la demande évaporative pourrait conduire à des périodes de sécheresse plus longues et plus intenses (IPCC, 2013) (Figure 2B). Actuellement une large proportion des vignobles subissent déjà des déficits hydriques saisonniers dues aux contraintes hydriques atmosphériques (fort déficit de pression de vapeur, VPD) ou édaphiques (faible disponibilité en eau dans le sol). Dans le contexte du changement climatique, les simulations climatiques réalisées mettent en évidence une augmentation potentielle des contraintes hydriques allant au-delà d'un déficit hydrique modéré au cours de la maturation des raisins, notamment dans le Sud de la France (Schultz, 2000; Garcia de Cortazar, 2006, Brisson et Levrault, 2010). Une dégradation de la quantité et de la qualité des raisins et des vins pourrait alors être envisagée (Jones et al., 2005, Deluc et al., 2009), et ce avec des effets pluriannuels (Guilpart et al., 2014).

Actuellement, 70% de l'eau consommée dans le monde est utilisée pour l'agriculture et d'ici 2025, une augmentation des besoins de 17% est attendue (Pennisi, 2008). Cette augmentation des besoins liés à l'irrigation des cultures et à la croissance démographique va conduire à une compétition accrue pour l'eau, notamment en situation de sécheresse. Des stratégies et techniques d'irrigation peuvent être mises en place (Dodd et al., 2008; Ortega-Farias et al., 2012), mais pour les espèces végétales telles que la vigne, qui est relativement bien adaptée à la sécheresse et qui survit en situation semi-aride (Chaves et al., 2010), l'irrigation ne peut être considérée comme une solution durable. De plus en France des contraintes particulières s'ajoutent : le contrôle législatif des conditions de production au sein des Appellations d'Origine Protégée, l'impact du terroir sur la qualité et la renommée du vin, et l'accès à l'eau pour de nombreux vignobles limitent le potentiel d'action des viticulteurs.

Depuis la deuxième moitié du XIXème siècle et la crise phylloxérique, l'utilisation généralisée de porte-greffes offre une solution d'adaptation durable à différentes contraintes abiotiques, dont la sécheresse (Ollat et al., 2012, Serra et al., 2014). Cette option technique permet de maintenir la typicité régionale des cépages tout en s'adaptant à l'évolution des contraintes environnementales.

Au sein des cépages, il existe aussi une variabilité pour le caractère d'adaptation à la sécheresse, dont les fondements physiologiques ne sont pas encore déterminés. Une variabilité génétique de réponse du contrôle transpiratoire en fonction des conditions atmosphériques (VPD) et de la disponibilité en eau du sol a été mise en évidence (Chaves et al., 2010). Le lien entre mode de régulation stomatique et adaptation générale à la sécheresse n'est pas clairement établi. Certains cultivars, comme le Grenache, sont décrits comme fermant rapidement leurs stomates lorsque la demande évaporative augmente, ce qui a pour conséquence le maintien du potentiel hydrique foliaire. A l'inverse, des cépages comme la Syrah régulent moins efficacement leur transpiration et présentent un potentiel hydrique foliaire plus fluctuant. L'efficience d'utilisation de l'eau (WUE pour Water Use Efficiency) au niveau foliaire et de la plante entière est définie comme le gain carboné par rapport à la consommation d'eau. Il est considéré comme un bon indicateur de la croissance et de la productivité en situation de contrainte hydrique (Blum, 2009; Bacelar et al., 2013; Tomás et al., 2012) et peut servir de critère de sélection en amélioration variétale (Condon et al., 2004). Des différences d'efficience d'utilisation de l'eau ont été observées à différentes échelles chez la Vigne (Gibberd et al., 2001; Gomez-Del-Campo et al., 2015).

Le porte-greffe est responsable de l'absorption des éléments minéraux et de l'eau, il est donc capable d'influencer la croissance, la physiologie, le rendement, la phénologie et la qualité des fruits du greffon en situation de contrainte hydrique (Harbertson and Keller, 2012; Keller et al., 2012) ou d'alimentation en eau non limitante (Rouphael et al., 2010). Le comportement général des porte-greffes face à la contrainte hydrique est plutôt bien défini. On distingue des variétés dites sensibles et d'autres dites tolérantes (Carbonneau, 1985; Peccoux, 2011, Serra et al., 2014). La densité et la dynamique de croissance racinaire sont souvent évoquées pour expliquer ces différences en terme de capacité d'extraction de l'eau du sol (Bauerle et al., 2008; Peccoux, 2011). Mais le porte-greffe affecte aussi les processus de transport de l'eau (De Herralde et al., 2006) et de la régulation de la transpiration au niveau du greffon (Iacono et al., 1998, Marguerit et al., 2012). Des différences de conductivité hydraulique ont été mises en évidence (de Herralde et al., 2006 ; Lovisolo et al., 2008b). Ces paramètres pourraient aussi être responsables d'une meilleure adaptation (Alsina et al., 2011; Peccoux, 2011) et d'un contrôle de la WUE (Marguerit, 2010). Finalement, le couple porte-greffe/greffon possède une variabilité accrue du contrôle transpiratoire en déficit hydrique du fait de la diversité de chacun des partenaires.

Il n'est pas rare d'observer des variations de réponse stomatique en fonction des porte-greffes et des conditions expérimentales (Lovisolo et al., 2010) et pour certains auteurs, le caractère d'iso- ou anisohydrique pourrait partiellement être dépendant du porte-greffe (Chaves et al., 2010, Alsina et al., 2011; Tramontini et al., 2013).

La régulation stomatique dépend de signaux hydrauliques et chimiques interagissant étroitement (Pantin et al., 2013 ; Dodd, 2013). Ces signaux permettent de transmettre l'information sur l'état hydrique de l'environnement (sol et atmosphère) et/ou de différentes parties de la plante, vers les autres parties de la plante qui mettent alors en œuvre des processus de réponses à cette contrainte.

Le rôle de l'acide abscissique sur la régulation stomatique a été mis en évidence chez de nombreuses espèces dont la vigne (Loveys et Kriedemann, 1974). Il a été montré que la conductance stomatique est en général fortement corrélée aux teneurs hormonales xylémiennes (Tardieu et Simonneau, 1998; Thompson et al., 2007; Tardieu et al., 2015). En situation de déficit hydrique édaphique, la synthèse racinaire d'ABA et son transfert vers la partie aérienne via la sève xylémienne ont largement été établis (Simonneau et al., 1998 ; Schachtman et Goodger, 2008; Allario et al., 2013; Pérez-Pérez et Dodd, 2015). Chez des plantes greffées, y compris la vigne, le génotype de porte-greffe affecte la concentration en ABA dans la sève et la sensibilité des stomates à l'état hydrique (Soar et al., 2006a ; Allario et al., 2013 ; Speirs et al., 2013, Tramontini et al., 2013). Mais plusieurs études mettent en avant le rôle majeur du métabolisme de l'ABA au niveau foliaire comme principal régulateur de l'ouverture stomatique (Munns et Cramer, 1996; Soar et al., 2004; Wilkinson et Davies, 2002; Christmann et al., 2007).

La régulation des flux hydriques par le système racinaire est aussi capable d'influencer de manière directe ou indirecte, l'ouverture stomatique (Christmann et al., 2013 ; McAdam et Brodribb, 2015). De fortes corrélations ont été mises en évidence entre la conductivité hydraulique racinaire ou de la plante entière et la transpiration foliaire (Franks et al., 2007 ; Vandeleur et al., 2009). Au niveau foliaire, les cellules de garde sont sensibles à la pression exercée par les cellules épidermiques adjacentes (Franks et Farquhar, 2007). Le niveau de turgescence de ces cellules peut être le signal hydraulique contrôlant l'ouverture stomatique et dépendre de la conductivité hydraulique racinaire (Vandeleur et al., 2009). En raison de leur rôle sur le transport inter- et intracellulaire de l'eau, les aquaporines pourraient jouer un rôle majeur sur le contrôle de la conductivité hydraulique à l'échelle tissulaire ou de la plante entière (Maurel et al., 2008, Vandeleur et al., 2009 ; Gambetta et al., 2012).

Finalement il a été montré que l'ABA modifie la conductivité hydraulique racinaire et foliaire, et agit sur la régulation transcriptionnelle et post-traductionnelle des aquaporines, laissant envisager que régulations chimique et hydraulique de l'ouverture stomatique sont étroitement liées (Thompson et al., 2007; Parent et al., 2009 ; Pantin et al., 2013 ; Finkelstein, 2013 ; Dodd, 2013).

L'UMR Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne, dans laquelle j'ai effectué mon travail de thèse, s'intéresse, entre autres, aux mécanismes qui contrôlent l'adaptation à la sécheresse des porte-greffes de vigne. Des travaux antérieurs ont permis de démontrer que le rôle du porte-greffe sur la transpiration et l'efficience de l'eau de la plante greffée est sous contrôle génétique (Marguerit, 2010). Un caractère comme la capacité d'extraction de l'eau du système racinaire pourrait être déterminant pour expliquer l'effet porte-greffe. Des gènes impliqués dans le métabolisme de l'ABA, mais aussi codant des aquaporines sont situés dans l'intervalle de confiance des QTLs détectés (Marguerit et al., 2012). Une seconde étude a mis en évidence des différences importantes de conductivité hydraulique entre 2 porte-greffes respectivement sensibles et tolérants à la sécheresse (Peccoux, 2011). Elle a par ailleurs révélé que la part relative des signaux chimiques et des signaux hydrauliques pourrait varier en fonction du génotype de porte-greffe.

Suite à ces travaux et compte-tenu de l'état des connaissances sur la régulation de la transpiration se posent deux questions majeures : 1- quelle variabilité existe-t-il entre génotypes de porte-greffe au niveau de la signalisation chimique (ABA) et hydraulique pour le contrôle de la transpiration de la vigne greffée ? 2- quelle est la part relative du greffon et du porte-greffe dans la régulation de la transpiration ?

Dans ce contexte, les objectifs de mon travail de thèse sont :

- D'identifier la variabilité des mécanismes contrôlant la transpiration sur une gamme de génotypes de vigne
- Associer le contrôle transpiratoire au caractère de tolérance ou de sensibilité à la sécheresse défini au champ et sur le long terme.
- D'identifier la part relative des signaux hydrauliques et chimiques transmis par le porte-greffe au greffon dans le contrôle transpiratoire en déficit hydrique
- De caractériser l'effet de la greffe sur la signalisation hydraulique et chimique au niveau de la plante entière.

Tableau I - Genotypes used in this study, including parentage and drought sensitivity characteristics according to Carbonneau (1985) and Schultz (1996).

Genotypes	Usual name	Parentage	Drought sensitivity
Riparia Gloire de Montpellier	RGM	*V. riparia Michaux*	Highly sensitive
Millardet et de Grasset 101-14	101-14MGt	*V. riparia* x *V. rupestris*	Sensitive
Téléki-Fuhr Selection Oppenheim n°4	SO4	*V. riparia* x *V. berlandieri*	Sensitive
Couderc 161-49	161-49C	*V. riparia* x *V. berlandieri*	Medium
Millardet et de Grasset 41B	41B	*V. vinifera L.* x *V. berlandieri*	Medium
Richter 110	110R	*V. berlandieri* x *V. rupestris* Martin	Tolerant
Ruggeri 140	140Ru	*V. berlandieri* x *V. rupestris* du Lot	Tolerant
Syrah	Syrah	*V. vinifera*	Tolerant
Grenache	Grenache	*V. vinifera*	Drought Avoiding

Nous avons travaillé sur 9 génotypes dont le Grenache, la Syrah et 7 variétés de porte-greffes ayant des fonds génétiques différents et des caractéristiques d'adaptation à la sécheresse au champ variées (Tableau I). Ces génotypes ont été étudiés en tant que boutures ou de combinaisons porte-greffe / greffons, soumis à des contraintes hydriques de courte durée. Notre étude s'est focalisée sur le métabolisme de l'acide abscissique et des gènes associés à la transduction du signal ABA, ainsi que sur les caractéristiques hydrauliques des plantes et l'expression de plusieurs gènes codant des aquaporines. Nos systèmes expérimentaux ont toujours été caractérisés au niveau de l'état hydrique, de la transpiration, de la surface foliaire et de l'allocation de la biomasse. Les résultats de ces travaux sont présentés et discutés dans le présent document. Après le chapitre 1 faisant un état de l'art sur les principales questions scientifiques abordées dans cette étude, les chapitres 2 et 3 sont relatifs aux expérimentations conduites sur boutures et portent respectivement sur le métabolisme de l'ABA et la conductivité hydraulique. Le chapitre 4 s'intéresse aux réponses physiologiques de plantes greffées en situation de contrainte hydrique et le chapitre 5 présente les réponses transcriptomiques au niveau foliaire et racinaire dans ces mêmes conditions. Le manuscrit s'achève par une discussion générale suivie de conclusions et des perspectives envisagées.

Ce travail de thèse a été conduit dans le cadre du projet Laccave rattaché au Métaprogramme ACCAF, dont l'objectif est d'étudier les impacts et les stratégies d'adaptation au changement climatique de la filière Vigne et Vin en France. Il a été financé par le Département INRA « Environnement-Agronomie » et par la Région Aquitaine.

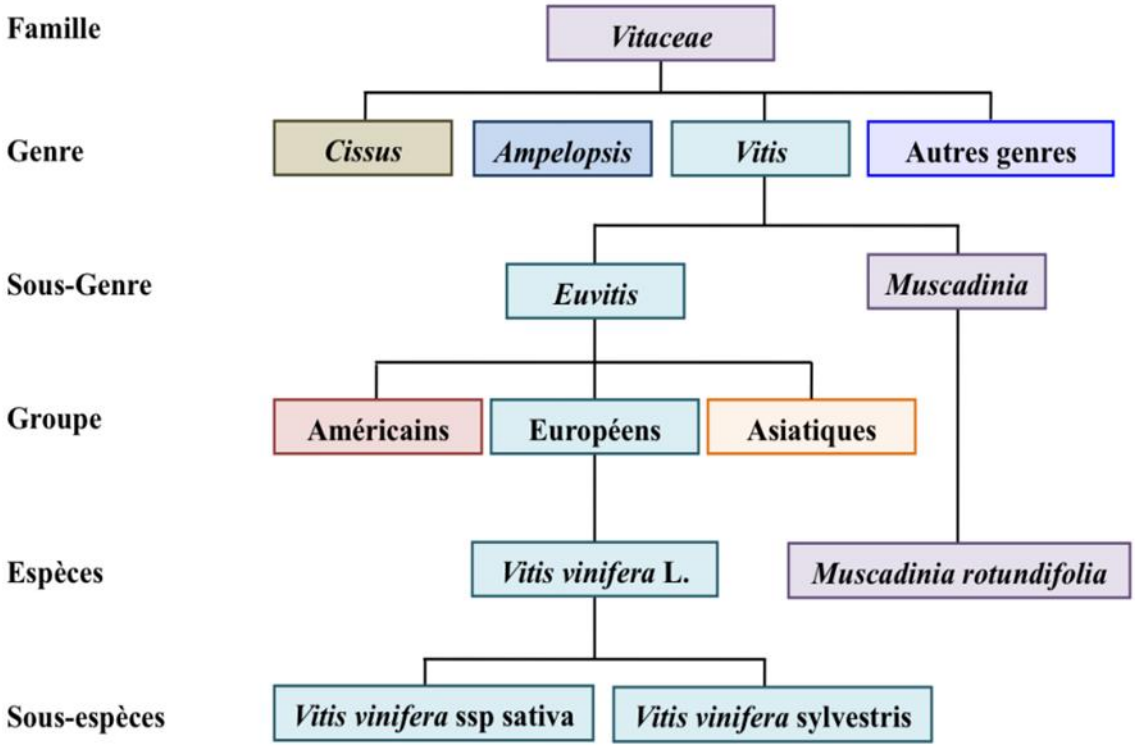


Figure 1.1 - Phylogenetic classification of main Vitis species (From Zah-Bi, 2014)

Chapitre 1 : Etude bibliographique

I- Diversité génétique de la vigne

I-1. Généralités

La vigne est une liane ligneuse de la famille des *Vitaceae* caractérisée par des vrilles et des inflorescences opposées aux feuilles. La croissance de la tige se fait principalement de manière acrotonique (Pratt, 1974). La famille des *Vitaceae* contient approximativement 1000 espèces réparties en 17 genres, mais l'ensemble des espèces cultivées sont regroupées dans le genre *Muscadinia* (2n = 40 chromosomes) comprenant uniquement 3 espèces et dans le genre *Vitis* (2n = 38 chromosomes). Aucune hybridation naturelle entre les deux genres n'a été recensée mais, des croisements inter-genres avec l'espèce *M. rotundifolia* réalisés pour différents programmes d'amélioration variétale ont permis de créer des hybrides plus résistants aux nématodes (Esmenjaud et al., 2010), à l'oïdium (Barker et al., 2005) et au mildiou (Bouquet, 1980; Merdinoglu et al., 2003 ; Wiedemann-Merdinoglu et al., 2006).

Le genre *Vitis* comprend environ une soixantaine d'espèces principalement divisées en deux groupes qui reflètent la distribution géographique du genre : le groupe Eurasien (parfois divisé entre le groupe Européen et le groupe Asiatique) et le groupe Américain (Galet, 1988) (Figure 1.1).

Le groupe Eurasien est dominé par une espèce d'intérêt majeur du point de vue agronomique : *Vitis vinifera* [Linné] (*V. vinifera* L.). Cette espèce est la forme principalement utilisée en viticulture et se caractérise par une forme domestiquée *V. vinifera* subsp. *vinifera* (ou *sativa*) et une forme sauvage *V. vinifera* subsp. *silvestris* (ou *sylvestris*) (This et al., 2006). La forme domestiquée contient plus de 10 000 cultivars, parmi lesquels la Syrah, le Grenache, le Chardonnay, le Pinot noir, le Merlot, le Cabernet Sauvignon sont les plus cultivés (Galet, 1988, Alleweldt et al., 1990). La diversité des cultivars au sein de la forme domestiquée provient principalement de l'hybridation intraspécifique des cultivars élites (Myles et al., 2011) et de mutations génétiques notamment pour les cultivars blancs (Walker et al., 2007). Une dizaine d'autres espèces compose le groupe Eurasien, dont certaines ont un intérêt économique comme *V. coignetiae* qui est cultivée pour son jus ou *V. amurensis* qui fait partie de programmes de sélection pour sa résistance à de nombreux pathogènes (Cadle-Davidson, 2008; Wan et al., 2007; Li et al., 2008) et au froid (Ma et al., 2010).

Le groupe Américain comprend de nombreuses espèces du genre *Vitis* dont les usages sont variés : elles peuvent être utilisées pour leurs raisins comme l'espèce *V. labrusca* L., en tant que porte-greffe (Galet, 1988; Keller, 2010) ou servir de parents dans des programmes d'amélioration variétale. Les espèces d'origine américaine sont natives de différents habitats écologiques. La plupart proviennent de zones proches d'une source d'eau permanente, mais d'autres sont issues de zones rocailleuses et arides. Leur habitat d'origine reflète en général leurs caractères d'adaptation aux conditions environnementales (Pongrácz, 1983; Galet, 1988; Morano et Walker, 1995; Arrigo et Arnold, 2007).

I-2. Utilisations des porte-greffes dans la viticulture

Jusqu'au milieu du XIXème siècle, les plants de vigne étaient cultivés sur leurs propres racines en Europe. A cette même époque, les échanges de matériel végétal nombreux entre le continent Nord-Américain et l'Europe ont conduit à l'introduction et à la prolifération de nombreux pathogènes et ravageurs de la vigne dont le Phylloxéra (*Daktulosphaira vitifoliae*). Ce puceron provoqua en une dizaine d'années la quasi-destruction du vignoble européen. Félix Sahut, Emile Planchon et Gaston Bazille, missionnés par la Société Centrale d'Agriculture de l'Hérault en 1869 ont mis en évidence la sensibilité du système racinaire de l'espèce *V. vinifera* L. et la tolérance des espèces américaines au phylloxera. Par la suite Alexis Millardet en 1882, fût le premier à hybrider les variétés françaises et américaines afin d'obtenir un porte-greffe résistant au phylloxera. Depuis, l'utilisation d'hybrides en tant que porte-greffes a permis de résoudre durablement le problème, tout en gardant les spécificités de la viticulture européenne par l'utilisation des greffons d'origine *V. vinifera* L (Pongracz, 1983).

De nos jours près de 80% des vignobles dans le monde sont cultivés greffés (Smith, 2004) sur des porte-greffes qui sont des variétés d'espèces pures d'origine Nord-Américaine ou sur des hybrides interspécifiques issus de ces mêmes espèces (Mullins et al., 1992). D'abord utilisés pour leur résistance au phylloxera, les porte-greffes ont ensuite été sélectionnés pour d'autres caractères agronomiques tels l'adaptation aux contraintes abiotiques comme les fortes teneurs en calcaire ou le déficit hydrique, ainsi que l'acidité ou la salinité des sols (Galet, 1998; Cordeau, 1998; Whiting, 2005, Ollat et al., 2016) et la résistance à des contraintes biotiques comme les nématodes endo- ou exo-parasites (Nicol et al., 1999). Le porte-greffe se situe à l'interface entre le sol et le greffon, il est capable d'influencer l'acquisition et le transport de l'eau et des minéraux de la plante entière.

Sur ces aspects de nombreuses études ont montré le rôle du porte-greffe sur l'absorption d'eau (Carbonneau, 1985 ; Marguerit et al., 2012 ; Peccoux, 2011; Serra et al., 2014), et la nutrition minérale dont le nitrate (Keller et al., 2001a,b; Holzapfel et Treeby, 2007, Lecourt et al., 2014), le potassium (Kodur et al., 2010), le phosphore (Grant et Matthews, 1996a,b), le magnésium (Garcia et al., 2001), le fer (Bavaresco et al., 1994; Jiménez et al., 2007), et le sodium et le chlore (Walker et al., 2010; Gong et al., 2010 et 2011).

En contrôlant l'absorption minérale et hydrique, le porte greffe influence la croissance végétative, ainsi que le développement et la qualité des baies au niveau du greffon (Ollat et al., 2003; Tandonnet et al., 2010). Différents exemples sont disponibles dans la littérature sur le rôle du porte-greffe sur la phénologie (Pongracz, 1983; Whiting, 2005 ; Ollat et al., 2016), le rendement (Main et al., 2002, Jones et al., 2009), le poids des bois de taille (Tandonnet et al., 2010), et le développement foliaire (Paranychianakis et al., 2004; Koundouras et al., 2008) et racinaire (Smart et al., 2006 ; Alsina et al., 2011). De la même manière, le porte-greffe influence la qualité de la baie en modulant les paramètres qualitatifs tel que les sucres (Ezzahouani et William, 1995), les acides organiques (Rühl et al., 1988), les acides aminés (Treeby et al., 1998) et le métabolisme secondaire (Koundouras et al., 2009, Berdeja, 2013, Helwi et al., 2015).

La mise en œuvre de greffages réciproques permet de mieux caractériser l'effet du greffon, du porte greffe et de leur interaction. De cette manière, il a été montré que l'allocation de biomasse racinaire, foliaire et le rapport biomasse racinaire/biomasse foliaire dépendent de l'interaction des deux génotypes (Tandonnet et al., 2010). Il apparaît que le couple formé par l'interaction du porte greffe et du greffon possède une plasticité de développement accrue, et que ces effets sont parfois imprévisibles (Smith, 2004).

L'environnement peut aussi modifier les interactions porte greffe/greffon notamment en situation de déficit hydrique. Par exemple il a été montré que la surface foliaire par mètre carré de sol est modifiée en cas de déficit hydrique pour la combinaison CS/1103P et pas pour CS/SO4 (Koundouras et al., 2008).

Depuis plus d’un siècle, le porte-greffe est donc devenu un élément nécessaire en viticulture pour s'affranchir de contraintes biotiques majeures. Cependant, son impact sur le greffon doit être caractérisé de manière à identifier les leviers d'adaptation aux nouvelles contraintes abiotiques.

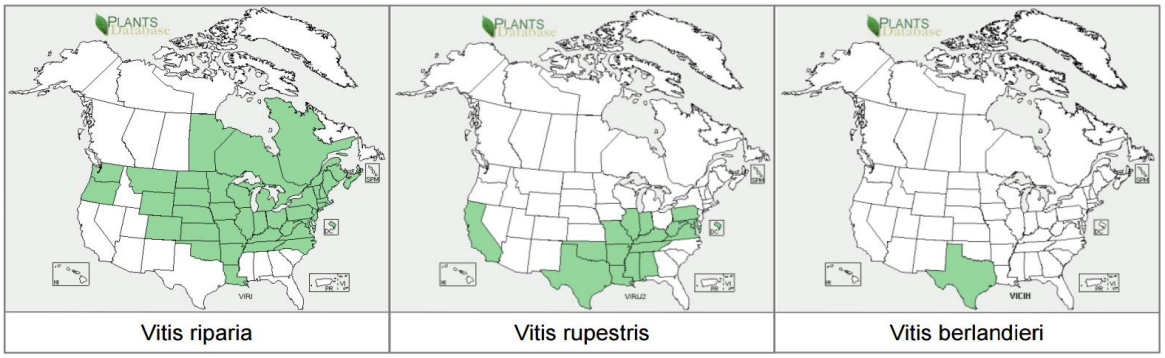


Figure 1.2- Native habitats of main American Vitis species used for rootstocks breeding (from http://plants.Usda.Gov).

I-3. Diversité génétique des porte-greffes

Il existe 70 à 80 porte-greffes de vigne au Monde, mais la diversité génétique au sein des porte-greffes est relativement faible puisque la plupart d'entre eux proviennent du croisement entre un petit nombre de génotypes (Keller, 2010) répartis majoritairement entre trois espèces *V. riparia*, *V. rupestris*, et *V. berlandieri*. Les parentés réelles des porte-greffes ne sont pas bien établies (de Andres et al., 2007 ; Laucou et al., 2008). Par ailleurs, malgré la grande diversité de climat, de sols et de variétés greffon dans le Monde, seulement 4 ou 5 porte-greffes sont majoritairement cultivés dans la plupart des vignobles. Ce sont des représentants de la famille Berlandieri-Riparia (SO4, 5BB) et de la famille Berlandieri-Rupestris (110R, 1103P, 140Ru), (Ollat et al., à paraitre).

L'espèce *Vitis riparia* possède l'aire de répartition géographique la plus étendue puisque celle-ci englobe la moitié Nord des Etats Unis et le Sud Est du Canada (Figure 1.2). Cette espèce est fortement grimpante et vit principalement au bord des rivières et dans les clairières humides. Outre son utilisation pour l'hybridation variétale un de ses cultivars est couramment utilisé en tant que porte-greffe sous le nom de Riparia Gloire de Montpellier. L'espèce *Vitis rupestris* est au contraire buissonnante, et se développe naturellement dans les lits caillouteux des ruisseaux du Sud Est des Etats Unis (Figure 1.2). Du fait de sa faible tolérance au calcaire elle est surtout utilisée en hybridation même si l'espèce peut être utilisée directement en tant que porte-greffe sous le nom de Rupestris du Lot (ou St Georges). L'espèce *Vitis berlandieri* a un port plutôt grimpant et est localisée uniquement au Texas sur des collines riches en calcaire (Figure 1.2). Ce *Vitis* est difficile à greffer et à bouturer d'où sont utilisation uniquement en hybridation (Galet, 1988).

Les hybrides interspécifiques formés combinent généralement les propriétés de leur parenté. Les hybrides *V. riparia* X *V. rupestris* (ex : 101-14 MGt, 3309C...), sont très résistants au phylloxera et on une forte capacité d'enracinement. Cependant leur tolérance à la sécheresse et au calcaire est faible, et ils induisent une croissance du greffon faible à moyenne. Ces porte-greffes sont donc bien adaptés aux sols fertiles et participent à la production d'un vin de qualité (Galet, 1988). Les hydrides *V. riparia* × *V. berlandieri* (ex : 161-49 C, SO4...) sont aussi très résistants au phylloxéra et ont une tolérance moyenne au calcaire et à la sécheresse. Leur capacité d'enracinement et de greffage est variable et ils induisent une croissance moyenne à forte du greffon (Galet, 1988).Les hybrides *V. rupestris* × *V. berlandieri* (ex : 110R, 140Ru...) sont connus pour leur forte résistance à la sécheresse mais ils possèdent des difficultés à l'enracinement et à la greffe. Ils induisent une forte croissance et fertilité du greffon (Galet, 1988).Les hybrides *V. vinifera* L. × *V. berlandieri* (ex : 41B Mgt, ...) sont connus pour leur adaptation au sol calcaire, mais possède des difficultés à l'enracinement. La croissance conférée au greffon est moyenne à forte, mais dépend du type de sol.

Rootstock	Parent Species	Phylloxera Resistance	Nematode Resistance	Crown Gall Resistance	Phytophthora Resistance	Grafted Scion Vigor	Drought Tolerance	Flooding Tolerance	Lime Tolerance	Salinity Tolerance	Acid Soil Tolerance	Clay Soil Tolerance	Sandy Soil Tolerance	Susceptibility to Mg Deficiency	Susceptibility to K Deficiency	Scion Fruit Maturation	Ease of Bench Grafting	Ease of Rooting
Riparia Gloire	*V. riparia*	⊙	◒			●	◒	●	●	●		●	◒	N		A	◒	○
Rupestris St. George	*V. rupestris*	◓	◒		●	◓	◒	◒	◒	●	◒	●	●		N	D		○
Rupestris du Lot	*V. rupestris*		○			◓	○	●	◒	●		◒	●			D	◓	
420A Millardet et de Grasset	*V. berlandieri* × *V. riparia*	◓	◒		●	◒	◒	●	○			○	◒		Y	D	◒	●
5BB Kober	*V. berlandieri* × *V. riparia*	◓	◒			◒	●	◒	○	◒		◒	●	Y	Y	D	◒	◒
SO4	*V. berlandieri* × *V. riparia*	◓	◒	◒	●	○	●	○	◒	●	○	◒	●	Y	N		◒	◒
8B	*V. berlandieri* × *V. riparia*	◓	◒			○	◒		◒								●	
5C Teleki	*V. berlandieri* × *V. riparia*	◓	◓			◓	●		◒	◒		○	●			A	◒	◒
161-49 Couderc	*V. berlandieri* × *V. riparia*	⊙	◒			○	●	●	○	●		◒	◒				●	●
99 Richter	*V. berlandieri* × *V. rupestris*	◓	◒	●		◓	○	●	◒	●	●	○	◒	Y	Y	D	⊙	◒
110 Richter	*V. berlandieri* × *V. rupestris*	◓	◒	●	●	○	◓	●	◒	◒	○	○	○	Y	Y	D	◓	●
1103 Paulsen	*V. berlandieri* × *V. rupestris*	◓	◒	◒	◒	○	○	●	◒	◓	◒	○	○	N	Y	D	○	○
140 Ruggeri	*V. berlandieri* × *V. rupestris*	◓	●	●	◒	◓	◓	●	○	◓	◓	○	◓	N	Y	D	○	◒
44–53 Malègue	*V. riparia* × *V. rupestris*	◓	○			○	◓	●	●		○	○	●	Y	N	A	⊙	◓
3309 Couderc	*V. riparia* × *V. rupestris*	◓	●	◓	●	◒	◒	●	●	●		◒	◒	N		A	◒	○
101-14 Millardet et de Grasset	*V. riparia* × *V. rupestris*	◓	◒	◓	◒	○	◒	●	●	○	○	◒	●			A	◒	○
Schwarzmann	*V. riparia* × *V. rupestris*	◓	○			○	◒		◒	○							◓	○
Gravesac	*V. berlandieri* × *V. riparia* × *V. rupestris*	◓	●			◒	○	○	◒		◓						○	○
1616 Couderc	*V. solonis* × *V. riparia*	○	●		●	◒	○	◒	●	○		●	◒			A	●	○
Salt Creek (Ramsey)	*V. champinii*	◒	◓	●	◓	◓	◒	◒		◓	●	●	◓				●	●
Dogridge	*V. champinii*	◒	◓		◓	◓	◒	◒		◓		●	◓				●	●
Harmony	*V. champinii* × *V. solonis* × *V. riparia*	◒	◓	◓		◒	◒	◒		◓		●	◒				○	◓
Freedom	*V. champinii* × *V. solonis* × *V. riparia*	◒	◓	◓		◒	◒			◓		●	○				○	○

⊙ ◓ ○ ◒ ●
Excellent/high.....Poor/low
A: Advanced; D: Delayed
N: No; Y: Yes

Figure 1.3- Examples of rootstock characteristics (from Keller, 2010)

De plus, leur résistance au phylloxéra n'est pas maximale du fait de la présence d'un parent sensible même si toute fois en pratique ils ne sont pas considéré comme sensibles (Galet, 1988). De manière plus précise, les caractéristiques de nombreux porte-greffes pour différents critères ont été revues par plusieurs auteurs (Figure 1.3) (Peccoux, 2011; Serra et al., 2014, Keller, 2015, Ollat et al., 2016).

II- Les réponses des plantes à la contrainte hydrique

II-1. Généralités

L'eau est le constituant majeur des végétaux, et assure des fonctions vitales dans le développement et la physiologie de ces organismes. A l'échelle de la plante, l'eau est nécessaire au processus de photosynthèse, d'absorption minérale et de régulation thermique. Au niveau cellulaire, l'eau participe en tant que substrat dans les réactions d'hydrolyse ou d'oxydation (notamment lors du processus de photosynthèse), mais rend aussi possible l'ensemble des réactions biochimiques. De plus, en interaction avec la paroi, l'eau participe au contrôle de la croissance et de la turgescence cellulaire régissant les mouvements cellulaires tels que l'ouverture stomatique (Farooq et al., 2009; Le et al., 2011).

Les plantes sont des organismes non-mobiles qui doivent s'adapter aux contraintes environnementales pour survivre. En situation de contrainte hydrique, les plantes mettent en œuvre différentes stratégies qui consistent soit à éviter la contrainte, soit à mettre en œuvre des mécanismes lui permettant de maintenir ses fonctions physiologiques pour la croissance et la production (Tardieu, 2003). La seconde stratégie permet d'obtenir un rendement maximal en conditions de stress modéré, mais elle accroît également les risques en cas de déficit hydrique sévère (Amigues *et al*. 2006). L'adaptation à la sécheresse d'une espèce cultivée peut donc être considérée comme la capacité d'un génotype à produire un rendement acceptable en situation hydrique limitante (Tardieu et Tuberosa, 2010). Cette définition de l'adaptation à la sécheresse est valable pour la vigne, en y incluant également les aspects de maintien de la composition des raisins récoltés et de la pérennité des souches.

Les réponses de la plante au déficit hydrique édaphique peuvent être catégorisées en fonction de la durée et de l'intensité du déficit appliqué. A court terme la perte d'eau entraine une diminution de la turgescence cellulaire foliaire nécessaire à l'élongation cellulaire. Le changement de turgescence des cellules de garde entraine la fermeture stomatique, ce qui limite les échanges gazeux et la photosynthèse (Yu et al., 2009), et conduit à l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (Miller et al., 2010).

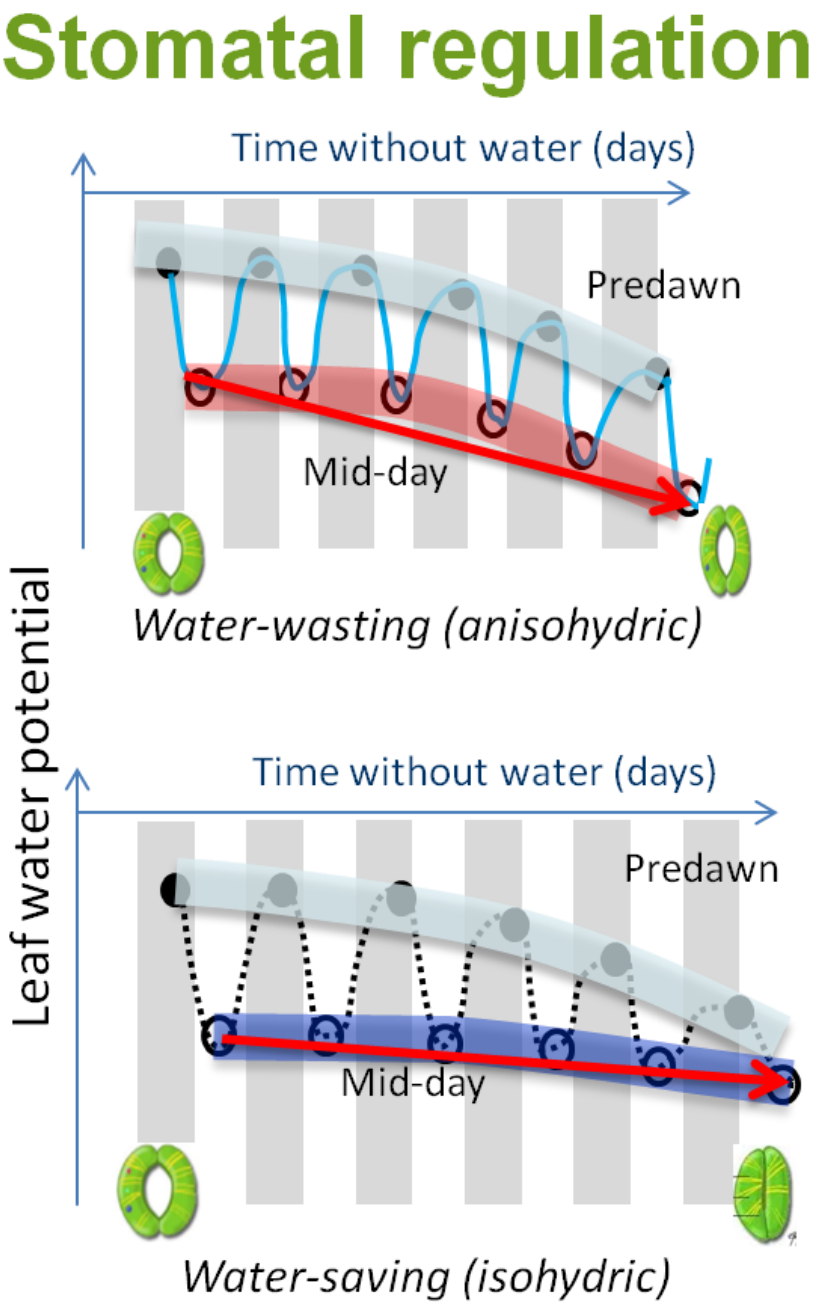


Figure 1.4- Iso- and anisohydric stomatal regulation. When soil content is decreasing, some varieties their stomata open, to a certain level, which leads to a decrease in leaf water potential. These varieties are characterized as anisohydric varieties. They maintain gaz exchanges and consequently photosynthetic activity, at the expense of water loss. Other varieties close their stomata very rapidly and consequently their leaf water potential is maintained to high levels, but photosynthetic activity is stopped. They are characterized as isohydric varieties. (Simonneau et Coupel-Ledru, personal communication)

A plus long terme, le déficit hydrique provoque une diminution de la croissance des parties aériennes au profit de la croissance racinaire notamment pour la vigne (Comas et al., 2010; Cramer et al., 2013). Ces changements morphologiques s'accompagnent de changements biochimiques nécessaires à la protection de l'intégrité cellulaire, comme par exemple l'accumulation d'osmolites, de protéines chaperonnes (LEA) et l'activation d'enzymes antioxydantes (Farooq et al., 2009).

II-2. Le contrôle de l'ouverture stomatique

Au sein des variétés de vigne, il existe une large variabilité de la régulation stomatique en situation de contrainte hydrique atmosphérique ou édaphique. Ceci permet de classer les cépages en 2 catégories ayant des comportements opposés (Chaves et al., 2010). Le comportement isohydrique est caractérisé par une fermeture précoce des stomates permettant le maintien du potentiel hydrique foliaire. Ce comportement parfois appelé "pessimiste" assure un contrôle strict des pertes en eau de la plante et de l'état hydrique de la plante. A l'inverse, le comportement anisohydrique (ou "optimiste") est défini par le maintien de l'ouverture stomatique et de l'activité photosynthétique pour un même niveau de déficit hydrique (Figure 1.4). Les pertes en eau sont alors plus importantes et affectent le statut hydrique de la plante. Ces différences de comportement stomatique en situation de déficit hydrique pourraient apporter des solutions adaptatives aux différentes formes de déficit hydrique (revue par Lovisolo et al., 2010). Lorsque le déficit hydrique est modéré et s'étend sur des courtes périodes, le comportement anisohydrique pourrait être favorable au maintien de la production alors que lorsqu'il est sévère et long, le comportement isohydrique pourrait être favorable à la pérennité des souches (Prieto et al., 2010).

Cependant, la distinction entre le comportement isohydrique et anisohydrique n'est pas toujours clairement établie, et des études mettent en évidence des comportements variables pour un même cépage (revu par Chaves et al., 2010 et Lovisolo et al., 2010). Par exemple, la transpiration de la vigne greffée est affectée par le porte-greffe (Marguerit et al., 2012), et il semble que le caractère iso-/anisohydrique puisse être contrôlé ou modifié par le porte-greffe (Vandeleur et al., 2009; Alsina et al., 2011). Les études de Rogiers *et al.* (2012) et de Zhang et al. (2012) sur des variétés anisohydriques cultivées non greffées suggèrent que le caractère iso- ou anisohydrique est dépendant du compartiment soumis à la contrainte hydrique (édaphique ou atmosphérique). En présence d'un déficit atmosphérique caractérisé par une forte demande transpiratoire (VPD élevé) et en condition irriguée (absence de déficit édaphique), la conductance stomatique varie peu alors que le potentiel hydrique foliaire diminue tel que défini par le caractère anisohydrique. Cependant lorsque le déficit atmosphérique (fort VPD) est combiné à un déficit hydrique édaphique, le cultivar adopte un comportement isohydrique.

Ce changement de comportement a déjà été décrit par Franks *et al.* (2007) chez l'Eucalyptus, et serait dû à l'augmentation de la sensibilité stomatique au VPD en situation de déficit hydrique édaphique. Ce comportement, appelé isohydrodynamique, permettrait de prévenir l'embolie des vaisseaux du xylème par l'intermédiaire d'un signal racinaire hydraulique ou/et chimique (Domec et Johnson, 2012).

Le contrôle de l'ouverture stomatique met en jeu des signaux chimiques et hydrauliques (Comstock, 2002). L'acide abscissique foliaire, mais aussi la conductivité hydraulique au sein de la feuille sont capables de réguler le flux transpiratoire (Schachtman and Goodger, 2008; Shatil-Cohen et al., 2011, Pantin et al., 2013, Pou et al., 2013). Le contrôle stomatique apparaît d'autant plus complexe que ces deux types de signaux interagissent étroitement (Pantin et al. 2013, McAdam et Brodribb, 2015). De plus, l'ABA d'origine racinaire ainsi que la conductance du tissu agissent sur les composantes foliaires du contrôle stomatique. Au niveau racinaire, ils sont d'ailleurs étroitement connectés (Soar et al., 2006a; Beaudette et al., 2007; Christmann et al., 2007; Thompson et al., 2007; Speirs et al., 2013). On peut se questionner sur la nature du signal racinaire contrôlant la transpiration en situation de déficit hydrique édaphique .

II-3. L'efficience de l'eau

Chez la Vigne, la fermeture stomatique en réponse au déficit hydrique intervient rapidement alors que son activité photosynthétique est moins sensible au statut hydrique de la plante (Flexas et al., 2002; Chaves et al., 2007), ce qui résulte en une amélioration de l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) en situation de contrainte (Chaves et al., 2010). Ce caractère agronomique peut être défini à plusieurs échelles, de la plante à la feuille, et reflète la capacité de la plante à produire de la biomasse sèche ou des éléments carbonés (via son assimilation photosynthétique) par rapport à la consommation d'eau ou à la conductance stomatique. Une efficience de l'eau élevée en situation de déficit hydrique est une cible majeure de l'adaptation à la sécheresse des grandes cultures (Blum, 2009; Bacelar et al., 2013; Tomás et al., 2012) et ce critère de sélection peut être utilisé en amélioration variétale (Condon et al., 2004). Chez la vigne, en situation sèche ou irriguée, il existe une large variabilité génétique entre les cépages pour ce caractère (Gibberd et al., 2001; Bota et al., 2001; Gaudillère et al., 2002; Chaves et al., 2010) et sa plasticité en réponse au déficit hydrique (Bota et al., 2001). Ces études révèlent parfois des comportements variables pour un même génotype témoignant de la variabilité liée à l'environnement (en pot ou en champs), à l'échelle d'évaluation (de la plante ou la feuille), et à l'impact de la greffe (de franc pied ou greffé) sur ce caractère (revu par Chaves et al., 2010).

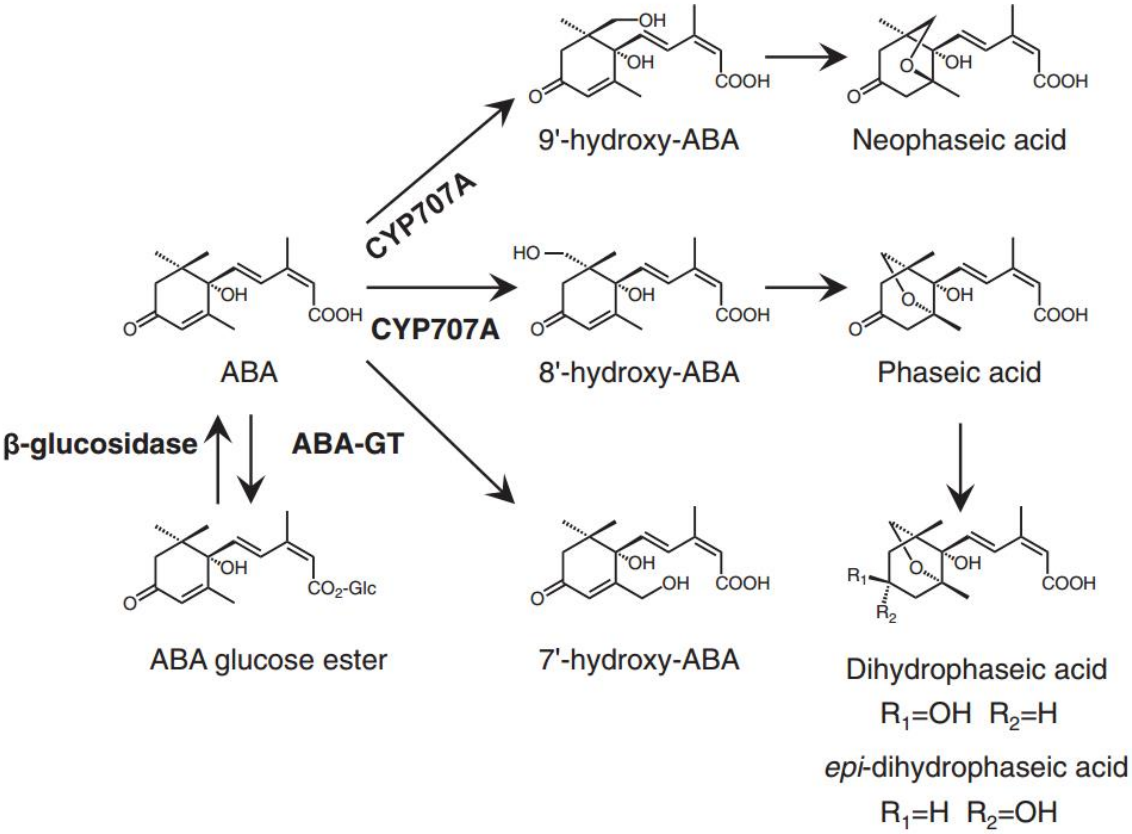


Figure 1.5- Storage and degradation pathway of ABA in higher plants. In hydroxylation pathways, ABA 8′-hydroxylation is thought to be a major ABA catabolic route. ABA is also inactivated to ABA glucosyl ester (ABA-GE) by ABA-glucosyltransferase (ABA-GT), but ABA-GE is converted to free ABA by β-glucosidase (From Endo et al., 2014)**.**

III- Les signaux chimiques intervenant dans le contrôle de la fermeture stomatique

Parmi les signaux chimiques régulant l'ouverture stomatique, l'ABA apparaît comme ayant une importance majeure (Davies et Zhang, 1991). Le facteur principal induisant sa formation et sa signalisation découle de la diminution de la teneur en eau cellulaire. L'ABA joue un rôle déterminant dans les processus de croissance, de développement et dans l'adaptation à différents stress environnementaux (Finkelstein, 2013). Cette hormone est impliquée dans le contrôle de différents mécanismes tels que la dormance des graines, l'inhibition de la germination, la formation de racines latérales, ainsi que dans le contrôle de la transpiration en agissant directement sur les stomates (Hauser et al., 2011). De plus en situation de déficit hydrique édaphique, l'ABA est considéré comme l'élément principal de la signalisation du statut hydrique des racines aux feuilles (Wilkinson et Davies, 2002; Jiang et Hartung, 2008).

III-1. Biosynthèse et catabolisme de l'ABA

En situation de déficit hydrique, l'ABA peut être synthétisé dans les racines (Simonneau et al., 1998), les tiges (Christmann et al., 2007) et dans les feuilles au niveau du parenchyme vasculaire et des cellules de garde (Endo et al., 2008, Boursiac et al., 2013).

L'ABA est un sesquiterpène (15 carbones) dérivé de la famille des caroténoïdes. Comme de nombreux tétraterpénoïdes (C40) végétaux, l'ABA est synthétisé par la voie plastidique du MEP (2-C-methyl-d-erythritol-4-Phosphate). La dioxygénase NCED (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) est l'enzyme responsable du clivage des composés C40 en Xanthoxine (C14), et est considérée comme une étape limitante de la voie de biosynthèse de l'ABA (revu par Nambara et Marion-Poll, 2005). La Xanthoxine ainsi produite est convertie en aldéhyde intermédiaire dans le cytosol par une déshydrogénase (ABA2), puis en ABA par une oxydase (abscisic aldehyde oxidase *;* AAO3 ou ABA3).

Une fois produite, l'hormone peut être stockée sous forme glycosylée inactive (ABA-GE) dans les vacuoles, puis être remobilisée très rapidement par hydrolyse enzymatique par la β-D-glucosidase lors d'un déficit hydrique (Figure 7) (Lee et al., 2006). Cependant, il semblerait que le niveau d'ABA-GE soit trop faible au niveau cellulaire pour avoir un impact significatif sur le niveau d'ABA en situation de déficit hydrique (Neill *et al.*, 1983; Priest *et al.*, 2006).

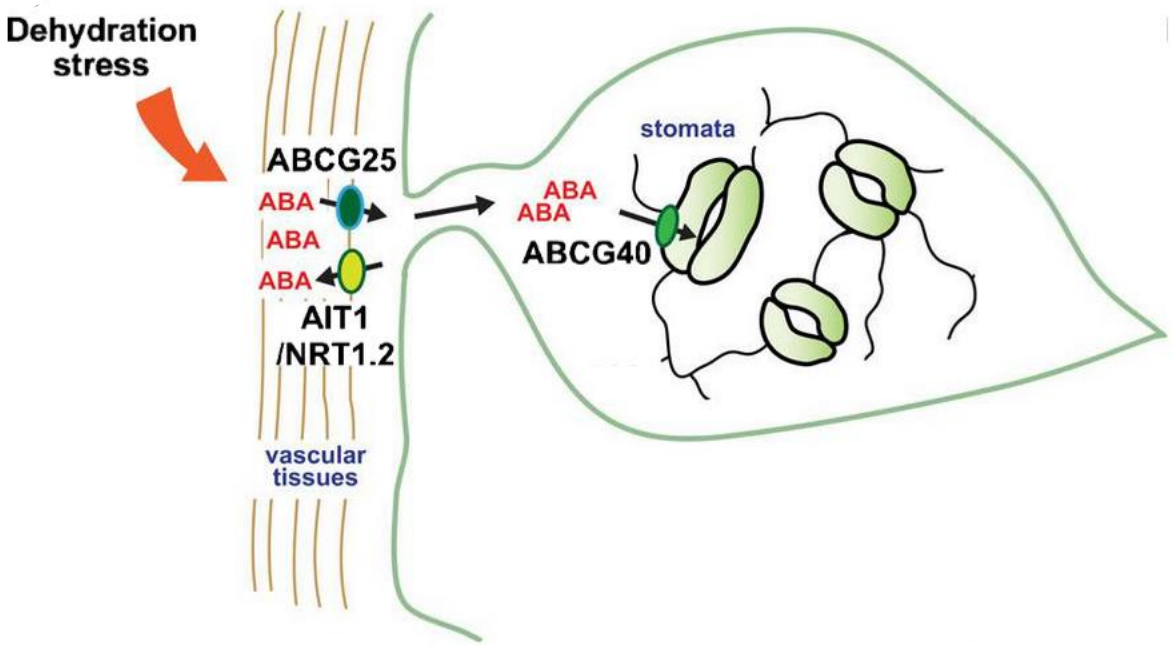


Figure 1.6- Transport model of ABA by ABC transporters. In response to dehydration stress, ABA is mainly synthesized in leaf vascular tissue and then transported to guard cells through the activity of ABA transporters. The membrane-localized ATP-binding cassette (ABC) transporter ABCG25 localized in vascular tissues plays a role in ABA export. The ABCG40 transporter found in guard cells plays a role in the import of ABA.AIT1/NRT1.2/NPF4.6 also has ABA importer activity, implying that ABA uptake from the site of ABA synthesis is important in regulating stomatal closure (From Osakabe et al., 2013).

Le catabolisme de l'ABA se fait principalement par l'oxydation du composé en acide phaséique (PA) et dihydrophaséique (DPA) grâce à l'activité du cytochrome P450 du groupe CYP707A (Figure 1.5)(Le et al., 2011).

La teneur en ABA cellulaire dépend principalement de sa synthèse et de sa dégradation (Nambara et Marion-Poll, 2005; Nilson et Assmann, 2007). Chez Arabidopsis, l'augmentation de la teneur en ABA en situation de déficit hydrique dépend de l'expression du gène *AtNCED3.* Un mutant sur-exprimant cette enzyme est caractérisé par une augmentation de sa teneur en ABA lui conférant un niveau transpiratoire plus faible en situation de déficit hydrique par rapport au sauvage (revue par Iuchi et al., 2001; Schwartz et al., 2003). Chez la vigne, l'induction des gènes *VviNCED1* (homologue de *At*NCED3) et *VviNCED2* au niveau racinaire et de *VviNCED1* au niveau foliaire est fortement corrélée à la teneur hormonale dans les différents tissus ainsi qu'à la diminution de la transpiration en situation de déficit hydrique édaphique (Soar et al., 2004 et 2006a ; Speirs et al., 2013).

L'expression des gènes du catabolisme *CYP707A*s est induite par des traitements exogènes d'ABA, et par le déficit hydrique, mais aussi lors de la réhydratation des tissus chez Arabidopsis (Kushiro *et al.*, 2004; Saito *et al.*, 2004). Chez la vigne et Arabidopsis, les gènes du catabolisme de l'ABA sont aussi sensibles aux variations de déficit de pression de vapeur (VPD), conduisant à la réduction de la teneur en ABA au niveau foliaire et augmentant la transpiration lorsque les conditions atmosphériques deviennent plus favorables (diminution du VPD) (Okamoto et al., 2009; Speirs et al., 2013).

III-2. Remobilisation de l'ABA à l'échelle de la plante

A l'échelle de la plante, l'ABA peut rapidement être mobilisé de son lieu de synthèse à son lieu d'action par diffusion passive sous l'action du pH. L'alcalinisation de l'apoplasme racinaire permet le passage de l'ABA dans la sève xylémienne puis son transport vers les feuilles par la transpiration. Au niveau des chloroplastes, l'acidification du stroma entraine la sortie de l'ABA dans le cytosol puis dans l'apoplasme de manière à agir directement sur les stomates (Schachtman et Goodger, 2008).

Différents transporteurs d'ABA de type ABC (ATP Binding Cassette) ont été identifiés dans les tissus vasculaires et au niveau des cellules stomatiques (Kang et al., 2010; Kuromori et al., 2010). Même si il semble que la diffusion passive joue un rôle prédominant dans le transport de l'ABA (Seo et Koshiba, 2011), le transport actif de l'ABA et la localisation des transporteurs ABC au sein des tissus vasculaires et des cellules stomatiques offrent un modèle de redistribution (par analogie avec le système endocrinien humain) de l'ABA de son lieu de synthèse à son lieu d'action (Figure 8) (Kang et al. 2010; Kuromori et al. 2010).

III-3. Sources de l'ABA contribuant au contrôle stomatique

L'ABA produit dans les racines en situation de contrainte hydrique, puis transporté vers les feuilles par le flux transpiratoire a été longtemps considéré comme le principal signal de l'état hydrique édaphique contrôlant l'ouverture stomatique (Wilkinson et Davies, 2002; Jiang et Hartung, 2008). Cependant, un certain nombre d'études (Munns et Cramer, 1996) et les travaux de Christmann et al., (2007) sur des plants d'Arabidopsis greffés montrent que le métabolisme de l'ABA au niveau foliaire est suffisant pour induire la réponse stomatique en situation de déficit hydrique édaphique. De plus, la remobilisation de l'ABA racinaire par le flux transpiratoire ne peut expliquer un contrôle stomatique rapide à l'échelle journalière dans le cas des grands arbres où la vitesse du flux est estimée à 2 m/h seulement (Zimmermann et Brown, 1971).

Le statut hydrique du sol pourrait être transmis vers les parties aériennes par un signal hydraulique correspondant à une diminution progressive du potentiel hydrique xylémien. Ce signal, complété par la synthèse d'ABA dans les cellules périvasculaires foliaires (Endo et al., 2008) et par la présence de transporteurs d'ABA (Kang et al. 2010 , Kuromori et al. 2010), offrent un modèle complexe de régulation stomatique. Le signal hydraulique (variation du potentiel hydrique) induit la synthèse et la remobilisation de l'ABA au sein de la feuille pour agir sur les stomates (Christmann et al., 2013). Au niveau foliaire chez la vigne, des différences de sensibilité stomatique à l'ABA ont été observées chez différents cultivars (Scienza, 1983; Hopper et al., 2014) et pour un même cultivar en fonction des conditions environnementales, notamment du type de sol (Tramontini et al., 2014). Il apparait que la vitesse du dessèchement du substrat modifie la réponse stomatique à l'ABA (Tramontini et al., 2014). Le signal hydraulique racinaire pourrait donc agir aussi sur la sensibilité stomatique à l'ABA en plus de son action sur le métabolisme local de l'ABA.

Par ailleurs, il apparait que l'ABA xylémien est capable de moduler la réponse stomatique par la production d'un signal hydraulique foliaire (Shatil-Cohen et al., 2011). L'ABA du xylème diminuerait la conductivité hydraulique des cellules périvasculaires foliaires (via les aquaporines) affectant alors le potentiel hydrique des cellules mésophylliennes et entrainant à la perte de turgescence des cellules de garde et donc la fermeture des stomates (Pantin et al., 2013). Chez la vigne, les travaux de Soar et al. (2004) tendent à montrer que la synthèse locale (via *VviNCED1*) au niveau foliaire est responsable de la concentration en ABA dans le xylème et du contrôle stomatique. Cependant en situation greffée, le porte-greffe modifie la concentration en ABA dans le xylème (Soar et al., 2006a), ainsi que la transpiration du greffon en situation de déficit hydrique (Marguerit et al., 2012; Alsina et al., 2011).

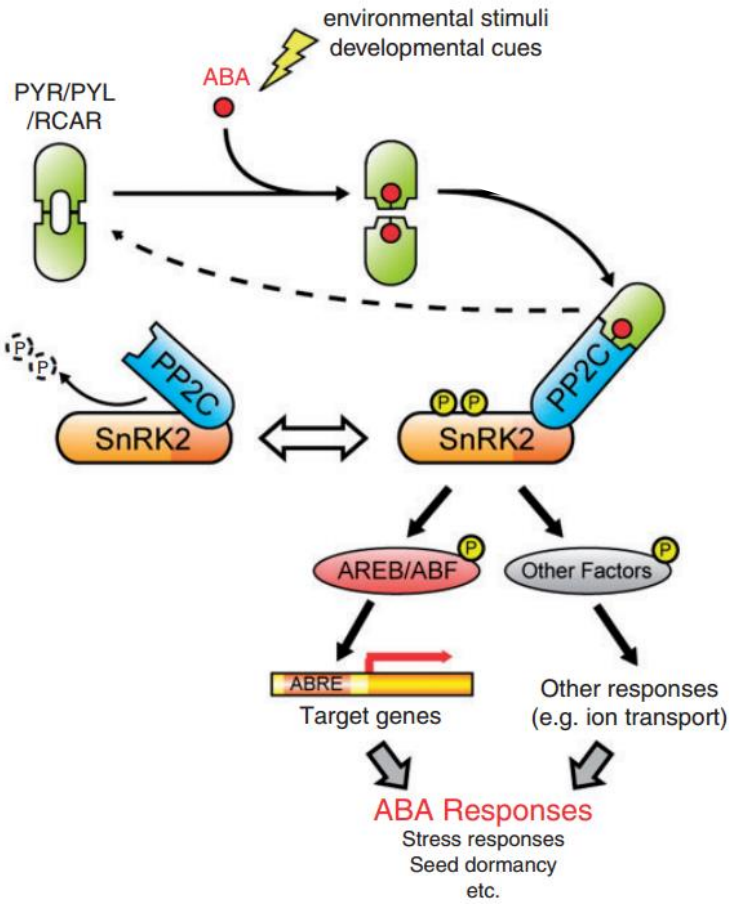


Figure 1.7- ABA signaling pathway. Under normal conditions, PP2C negatively regulates SnRK2 by direct interactions and dephosphorylation of multiple residues of SnRK2. Once abiotic stresses or developmental cues up-regulate endogenous ABA, PYR/PYL/RCAR binds ABA and interacts with PP2C to inhibit protein phosphatase activity. In turn, SnRK2 is released from PP2C-dependent regulation and activated to phosphorylate downstream factors, such as the AREB/ABF bZIP-type transcription factor or membrane proteins involving ion channels. (Modify from Umezawa et al., 2010)

Le métabolisme racinaire de l'ABA apparaît alors comme un élément clef dans la réponse stomatique à travers trois mécanismes :

1- par une action directe suite à son transport des racines vers les feuilles

2- par une modification des flux hydriques au niveau des feuilles (modification de la conductivité hydraulique des cellules périvasculaires) générant ainsi un signal hydraulique localisé

3-par une modification des flux hydriques au niveau racinaire (modification la conductivité hydraulique racinaire) pouvant induire un signal hydraulique à longue distance qui agirait de manière directe ou indirecte sur les stomates (via le métabolisme de l'ABA foliaire et/ou sur la sensibilité stomatique à l'ABA).

III-4. Transduction du signal ABA

La transduction du signal hormonal est réalisé par un complexe de protéines mettant en jeu des récepteurs, des phosphatases, des kinases et des facteurs de transcription (Figure 1.7) (Ma et al., 2009; Park et al., 2009; Chan, 2012; Finkelstein, 2013; Lumba et al., 2014; Dalal and Chinnusamy, 2015). Chaque composant de la régulation appartient à différentes familles protéiques. Les récepteurs font partie de la famille PYR/PYL/RCARs (PYRABACTIN RESISTANCE1/PYR1-LIKE/REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTORS), les phosphatases sont de la famille des PP2Cs (PROTEIN PHOSPHATASE 2C), les kinases sont de la famille des SnRK2s (SUCROSE NON-FERMENTING-RELATED KINASE 2) et les facteurs de transcription font partie de la famille des AREB/ABFs (ABA RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEIN/ABA RESPONSIVE ELEMENT BINDING FACTOR). En l'absence d'ABA, les phosphatases PP2Cs inactivent par phosphorylation et par une interaction physique les kinases SnRK2s. Lorsque l'ABA est présent dans le milieu cellulaire, il se fixe aux récepteurs solubles PYR/PYL/RCARs qui changent de conformation. Ce complexe est alors capable d'interagir avec les phosphatases PP2Cs afin d'inhiber leur action sur les kinases SnRK2s. Ces dernières sont alors capables d'activer par phosphorylation les facteurs de transcription AREB/ABFs permettant la réponse adaptative, mais elles agissent aussi sur des protéines membranaires au niveau stomatique notamment SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL ASSOCIATED 1) et KAT1 (POTASSIUM CHANNEL IN ARABIDOPSIS THALIANA 1)(Figure 10). Ces deux dernières protéines ont un rôle majeur dans le contrôle de la turgescence stomatique via le contrôle des flux de potassium (Pilot et al., 2001; Negi et al., 2008; Vahisalu et al., 2008).

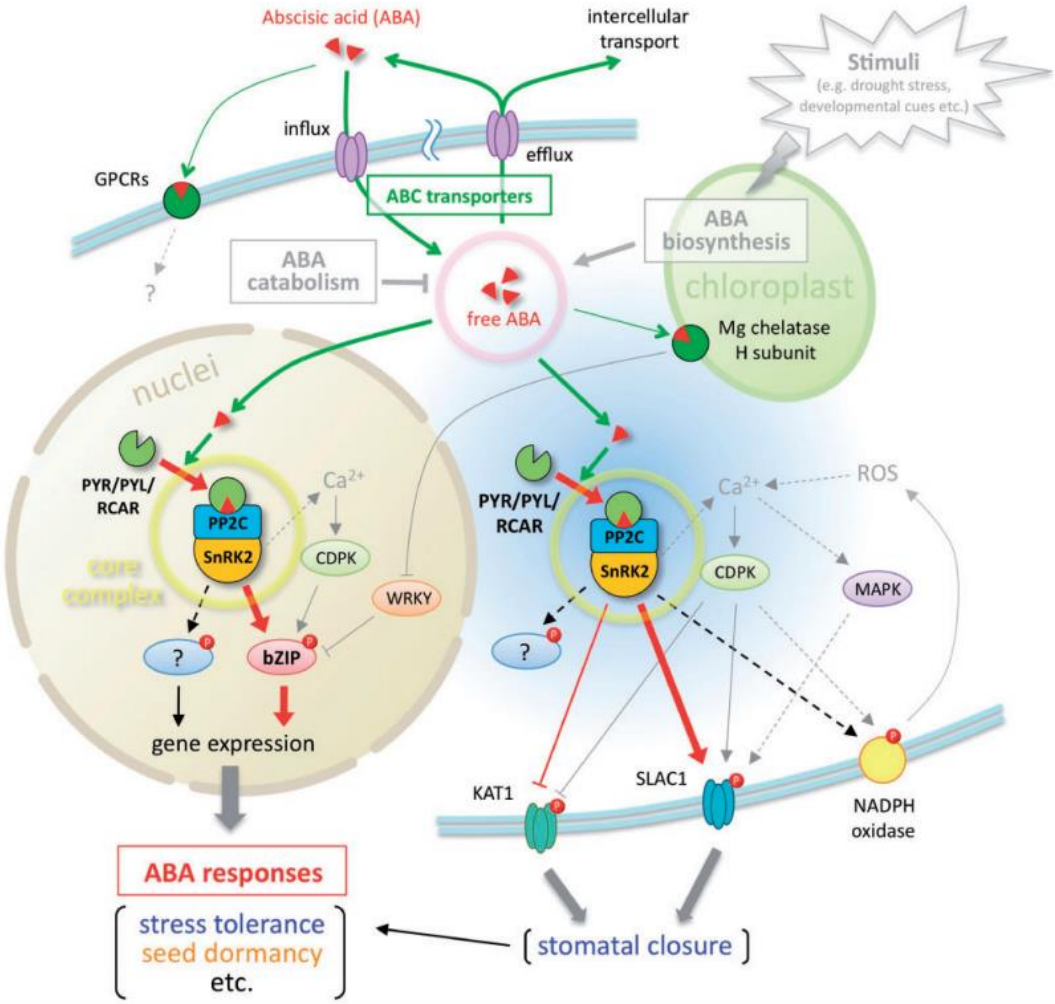


Figure 1.8- Overview of ABA sensing, signaling and transport. PYR/PYL/RCAR, PP2C and SnRK2 form a core signaling complex (yellow circle), which functions in at least two sites. One is the nucleus, in which the core complex directly regulates ABA-responsive gene expression by phosphorylation of AREB/ABF-type transcription factors. The other is the cytoplasm, and the core complex can access the plasma membrane and phosphorylate anion channels (SLAC1) or potassium channels (KAT1) to induce stomatal closure in response to ABA. ABA movements are indicated by green lines and arrows, and major signaling pathways are indicated by red lines and arrows. Dotted lines indicate indirect or unconfirmed connections (From Umezawa et al., 2010).

La régulation transcriptionnelle des différentes familles géniques impliquées dans la signalisation de l'ABA est complexe car elle est très largement multigénique. Néanmoins quelques généralités peuvent être présentées.

Les gènes codant la famille des récepteurs PYR/PYL/RCARs sont généralement réprimés au niveau foliaire et racinaire lors de différents stress biotiques et abiotiques (notamment le déficit hydrique), ou en présence d'ABA (Sun et al., 2011; Chan, 2012; Seiler et al., 2014; Dalal and Inupakutika, 2014). Mais l'expression de certains d'entre eux n'est pas modifiée, ou induite de manière transitoire. Chez l'orge par exemple, il a été montré que certains *PYR/PYL/RCARs* ne sont pas réprimés après 4 jours de déficit hydrique, alors qu'ils le sont après 12 jours, ce qui indique que la durée du stress affecte la réponse transcriptomique (Seiler et al., 2014).

Les gènes codant les phosphatases PP2Cs et les facteurs de transcription AREB/ABFs sont généralement induits par l'ajout d'ABA mais aussi en situation de déficit hydrique. Ceci a été observé chez de nombreuses espèces dont la vigne (Xue et al., 2008; Sun et al., 2011; Boneh et al., 2012a,b; Chan, 2012; Seiler et al., 2014; Dalal and Inupakutika, 2014; Yoshida et al., 2015).

Chez Arabidopsis, l'expression des gènes codant les protéïnes kinases SnRK2s est très variable en fonction des différents membres et du type de stress appliqué (Chan, 2012).

III-5. Les autres signaux chimiques

D'autres signaux chimiques semblent impliqués dans la régulation stomatique notamment les cytokinines (Sakakibara, 2006). Chez la vigne en situation de déficit hydrique, la teneur en différentes formes de cytokinines est réduite et l'augmentation du rapport ABA/Cytokinines racinaire pourrait expliquer l'augmentation de la croissance racinaire en situation de déficit hydrique (Stoll et al., 2000). De même l'éthylène dont la concentration foliaire diminue en situation de contrainte hydrique pourrait être impliqué dans la diminution de croissance foliaire (Sobeih et al., 2004).

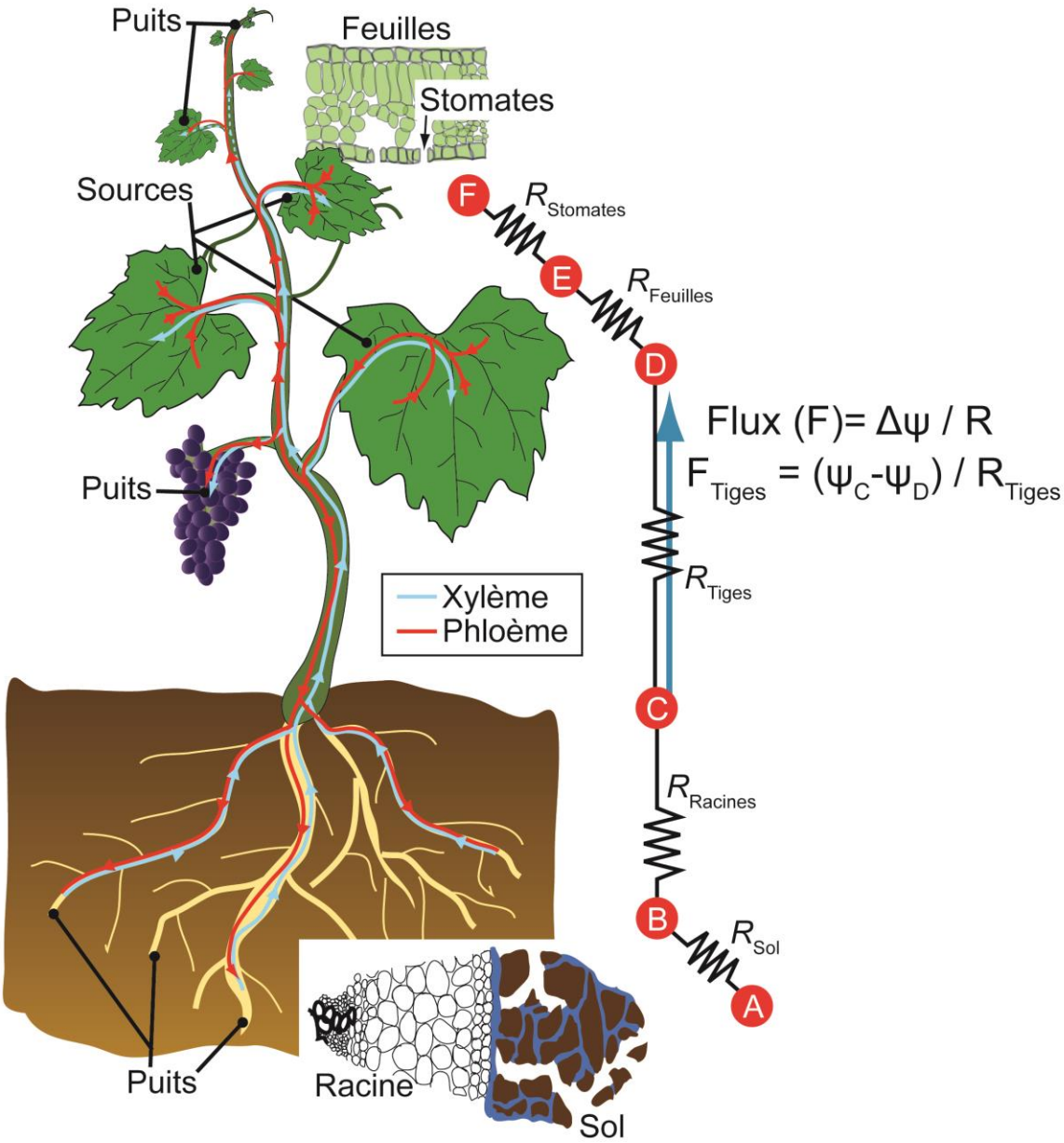


Figure 1.9- Overview of water and sugar transport and mains hydraulic resistance (R) in plant. Water and sugars move in the plant within the vascular network. The water rises through the xylem in the transpiration stream and sugars are distributed from the sources to sinks (flowers, fruits, roots...) through the phloem. The water flows through a plant segment is quantitatively expressed by the equation: Flow = Δψ / R, where R is the hydraulic resistance and Δψ the water potential gradient between the ends of the segment. (From Delrot et al., 2014).

IV- La composante hydraulique

IV-1 Architecture hydraulique de la plante

Le transport de l'eau au sein du continuum sol-plante-atmosphère (SPA) est régi de manière passive par la différence de potentiel hydrique qui existe entre le sol et l'atmosphère et par la conductance hydraulique (Kh) de la plante. Le potentiel hydrique de l'air ou déficit de pression (VPD), ainsi que le potentiel hydrique du sol peuvent être influencés par différents éléments tels que la température, la pression atmosphérique, la texture du sol ou sa teneur en sels, mais la disponibilité en eau est l'élément majeur contrôlant ces paramètres. En situation irriguée (ou en général), le potentiel hydrique de l'air est plus négatif que le potentiel du sol, ce qui explique le sens de déplacement de l'eau au sein de la plante, des racines aux feuilles (Cruizat et Tyree, 1990).

En 1978, Martin H. Zimmermann est le premier à énoncer le concept d'architecture hydraulique mettant en avant le fait qu'il existe au sein de la plante, différents compartiments dont les conductances hydrauliques sont variables. Plus tard par analogie avec la loi d'Ohm, Zimmermann (1983) énonce le principe de segmentation hydraulique (Figure 1.9). Le flux transpiratoire étant égal au flux absorbé, la résistance de la plante (R_h, $1/K_h$) est égale à la somme des résistances de chaque compartiment. Cette segmentation hydraulique peut être appliquée à différentes échelles, de la cellule au continuum (SPA), et a permis d'identifier les résistances hydrauliques les plus importantes au sein de la plante.

L'absorption racinaire, notamment chez la vigne, est assurée principalement par les jeunes racines exemptes de subérine (Comas et al., 2010). Elle est contrôlée par la pression hydrostatique générée par le flux transpiratoire et par la pression osmotique générée par le transport de solutés ou la synthèse d'osmolites (Aroca et al., 2012). L'eau doit nécessairement traverser différentes couches cellulaires vivantes (cellules épidermiques et corticales) avant de parvenir au tissu xylémien racinaire. Son transport peut emprunter deux voies, la voie apoplastique extracellulaire et la voie intracellulaire. Cette dernière comprend deux passages indifférenciables expérimentalement, la voie symplastique et la voie transcellulaire (Steudle and Peterson, 1998). La part relative du transport extra- et intracellulaire reste toujours en débat en fonction des espèces (Maurel et al., 2002; Knipfer and Fricke, 2010; 2011), même si il semblerait que la voie apoplastique soit préférentielle en situation transpirante et que la voie intracellulaire soit préférentielle en situation de contrainte hydrique pour la vigne (Vandeleur et al., 2009; Aroca et al., 2012).

L'eau, une fois transportée dans le xylème racinaire, se déplace de manière axiale jusqu'aux feuilles grâce à la force hydrostatique résultant du différentiel de potentiel entre ces deux extrémités. Chez la vigne, le tissu xylémien est sous forme de vaisseaux conducteurs dont la longueur et le diamètre varient en fonction des tissus et de leur développement. Ils peuvent atteindre un mètre de long pour 300 µm de large au niveau des tiges (Choat et al., 2010). La conductance du xylème dépend principalement de processus physiques tels que la dimension des vaisseaux (cellules mortes) et la structure des parois (Sperry et al., 2005).

Cependant, l'eau circulant dans le xylème est soumise à de fortes tensions. Cet état fortement instable peut entrainer la formation de bulles de vapeur d'eau et d'air chassant l'eau du conduit. Ce phénomène est appelé cavitation ou embolie (Tyree and Sperry, 1989, Cruiziat et al., 2001) et a pour conséquence une diminution de la conductivité hydraulique xylémienne. Les différentes propriétés physiques du xylème [par exemple la longueur et le diamètre des vaisseaux conducteurs, la forme et la structure des pores inter-vaisseaux] peuvent influencer la tension nécessaire à la formation de l'embolie (Choat et al., 2008). Celle ci se produit principalement suite à l'augmentation du gradient de potentiel hydrique entre les feuilles et les racines, notamment lors d'un déficit hydrique édaphique (Cochard et al., 2009).

Ce mécanisme semblerait être réversible (Holbrook *et al.,* 2001; Brodersen *et al.,* 2010, Chitarra et al., 2014; Knipfer et al., 2015) et varie au sein de la journée chez la vigne (Lovisolo *et al.,* 2008a) ou chez d'autres espèces ligneuses (Domec *et al.,* 2006 ; Johnson *et al.,* 2009). Les mécanismes de réparation de l'embolie des vaisseaux conducteurs ne sont pas encore clairement élucidés et semblent dépendre des espèces (Brodersen et McElrone, 2013). Chez la vigne, la réparation de l'embolie est très rapide après réhydration du sol (10 à 48h) (Lovisolo et al., 2008a; Brodersen et al., 2010; Knipfer et al., 2015) et différents mécanismes semblent y participer. Tout d'abord il semblerait y avoir la génération d'une force osmotique via la dégradation des composés carbonés et le transport des sucres produits des cellules du parenchyme vasculaire aux vaisseaux conducteurs (Perone et al., 2012b; Chitarra et al., 2014). La pression osmotique exercée par la poussée radiculaire participe à la réparation de l'embolisme chez la vigne notamment pour les parties basales (racines et tronc) (Brodersen et McElrone, 2013). Par leur rôle dans le contrôle des flux axiaux, les aquaporines facilitent la réhydratation des vaisseaux conducteurs (Galmes et al., 2007; Chitarra et al., 2014). Enfin l'ABA, en maintenant les stomates fermés après réhydratation des tissus participe au processus de réhydratation des vaisseaux conducteurs (Lovisolo et al., 2008a)

Les tissus xylémiens au sein de différents organes présentent des différences de sensibilité à l'embolie. Chez la vigne, la tige est peu sensible à l'embolie (Alsina et al., 2007 ; Choat et al., 2010) en comparaison des pétioles (Schultz, 2003) ou des racines (Lovisolo et Schubert 2006 ; Lovisolo et al., 2008). Cette segmentation de la sensibilité à l'embolie a donné naissance au concept de « fusible hydraulique » qui permettrait de réduire la transpiration et de limiter la propagation de l'embolie aux tiges, tronc, grappes et racines principales (Lovisolo et al., 2010 ; Zufferey et al., 2011). Chez les gymnospermes et les angiospermes, la vulnérabilité à l'embolie du tissu xylémien est associée à l'aridité du climat d'où est originaire l'espèce (Pockman et Sperry, 2000; Maherali et al., 2004; Willson et Jackson, 2006; Choat et al., 2007). Les espèces originaires des climats plutôt arides possèdent une plus forte tolérance à l'embolie alors que l'inverse est observé pour les espèces natives d'un milieu mésotrophe. Récemment, cette observation a été vérifiée chez la vigne en comparant 3 espèces, *V. riparia, V. arizonica* et *V. champinii* (Knipfer et al., 2015). Deux comportements distincts ont clairement été mis en avant : l'espèce *V. champinii*, originaire d'un climat aride, est moins sensible à l'embolie, réduit moins sa transpiration en situation de déficit hydrique et est moins dépendante de la poussée radiculaire pour réhydrater ses tissus conducteurs que l'espèce *V. riparia*, originaire d'un habitat mésotrophe. L'auteur souligne que la formation et la réparation de l'embolie chez *V. riparia* au cours de plusieurs cycles de déficit hydrique pourrait nuire à ses réserves carbonées (Knipfer et al., 2015).

Au niveau foliaire, l'eau doit passer des tissus xylémiens au niveau des nervures principales et secondaires vers la chambre sous stomatique pour être transformée en vapeur lors du processus de transpiration. La voie empruntée par l'eau du xylème à la chambre sous stomatique via les tissus périvasculaires et mésophylliens n'est pas encore clairement établie (Sack et Holbrook, 2006). La voie apoplastique présentant une plus forte conductance semble privilégiée pour répondre à la demande évaporative (Boyer, 1974), mais la voie symplastique semble aussi impliquée. En effet, par analogie avec la bande de Caspary au niveau racinaire, les cellules périvasculaires peuvent être subérisées contraignant le transport de l'eau par la voie symplastique (Canny, 1993, Shatil-Cohen *et al.*, 2011).

IV-2 Méthodes de mesure

Différentes méthodes permettent d'estimer la conductance hydraulique de la plante ou de différents organes. L'objectif commun est d'estimer le flux hydrique traversant une section en fonction de la différence de pression qui existe entre les deux extrémités du système à mesurer (Tyree et al., 2005, Lovisolo et Tramontini, 2010). Le rapport entre le flux et le différentiel de pression permet de calculer la conductivité hydraulique du système.

La méthode la plus naturelle et la moins invasive est la méthode dite par flux évaporatif (EFM, Evaporative Flux Method). Cette méthode permet de calculer la conductance de la plante par le rapport entre la transpiration par unité de surface foliaire et la différence de potentiel hydrique entre le sol et la tige (Lovisolo et al., 2002). La transpiration est facilement évaluée avec un appareil de mesure des échanges gazeux ou par pesée lorsque les plantes sont cultivées en pots. Le potentiel hydrique du sol et de la tige peut être déterminé par des sondes à pression ou par la technique de chambre à pression. Cependant, cette méthode n'est applicable que pour une plante entière ou pour les parties aériennes feuillées. De plus, dans le cas où le potentiel hydrique est déterminé par la technique de chambre à pression, il est important de choisir une feuille non embolisée (Tsuda et Tyree, 2000).

Afin d'évaluer la conductivité de différents organes notamment les racines, deux autres méthodes sont couramment utilisées, la méthode par haute pression (HPM, High Pressure Method) et la méthode par succion (VPM, Vacuum Pump Method). La pression ou la tension est alors appliquée de manière artificielle et le flux hydrique est mesuré. Ces deux méthodes permettent de calculer la conductance de segments ou d'organes entiers, mais aussi de la plante entière en utilisant le principe de la segmentation hydraulique (Zimmermann, 1983).

En utilisant des pressions croissantes sur un temps court, il est possible de s'affranchir de contraintes liées à la mesure qui peuvent sur ou sous évaluer le flux et le différentiel de pression lié à la croissance de la plante (Tsuda et Tyree, 2000), l'ajustement osmotique ou l'élasticité des tissus (Tyree et al, 1995).

Les mesures réalisées avec la méthode EFM et HPM ont permis d'évaluer la résistance hydraulique de la plante entière chez un arbre *Acer saccharinum* (Tsuda et Tyree, 1997), et chez le soja, le tournesol, le haricot, la tomate, le poivrier et chez l'aubergine (Tsuda et Tyree, 2000). Les trois méthodes de mesure décrites ont donné des résultats identiques pour six espèces ligneuses y compris une espèce du genre *Vitis* (Sack et al., 2002).

En pratique, la mesure de la conductivité hydraulique se réalise principalement sur des segments (principalement pour les tiges) ou sur un organe entier (pointes racinaires, ensemble du système racinaire ou sur feuilles pétiolés), et est donc dépendante des flux axiaux et radiaux de l'eau.

En plus des mesures de conductance hydraulique, plusieurs études analysent la perte de conductivité lié à la formation de l'embolie. L'objectif est d'estimer la part relative de perte de conductivité liée à l'embolie en fonction du potentiel hydrique du tissu afin de générer des courbes de vulnérabilité. Trois méthodes sont couramment utilisées, la méthode par déshydratation (Sperry et Tyree, 1988), la méthode par injection d'air (Cochard et al., 1992; Salleo et al., 1993) et la méthode par centrifugation (Holbrook et al., 1995; Pockman et al., 1995). Ces trois méthodes donnent en général des résultats similaires chez différentes espèces (Choat et al., 2010). La longueur des vaisseaux conducteurs étant très élevée chez la vigne, certaines techniques sont inappropriées telle que la méthode par centrifugation, et d'autres doivent être optimisées comme la méthode par injection d'air en utilisant des segments de grande taille. Les méthodes visuelles par résonance magnétique (Choat et al., 2010) ou par tomographie à rayons X (Brodersen et al., 2010) et ainsi que celles par émissions acoustiques (Rosner et al., 2006) permettent d'estimer *in vivo* et de manière fiable la perte de conductivité liée à l'embolie.

V- Les aquaporines

Les aquaporines sont des protéines membranaires responsables du passage d'eau et de petites molécules neutres entre les cellules, jouent un rôle prédominant dans le trajet intracellulaire de l'eau (Maurel et al., 2008). Elles pourraient être impliquées dans le contrôle de la conductivité hydraulique en situation de contrainte hydrique, mais leur mode d'action via la force hydrostatique (générée par le transport de l'eau) ou osmotique (suite au déséquilibre de pression osmotique généré par le transport de l'eau) n'est pas encore élucidé (Aroca et al., 2012). Leur part relative dans l'absorption et le transport de l'eau en situation irriguée est estimée à 50% chez *Populus tremuloides* (Wan et Zwiazek, 1999), 30% chez *Pisum sativum* (Beaudette et al., 2007) et 40 à 75 % chez *Hordeum vulgare* L. (Knipfer et al., 2011). Leur rôle en situation de déficit hydrique n'est pas clair du fait de leur grande diversité, et de leur haut niveau de régulation transcriptionnelle et fonctionnelle (Maurel et al., 2008).

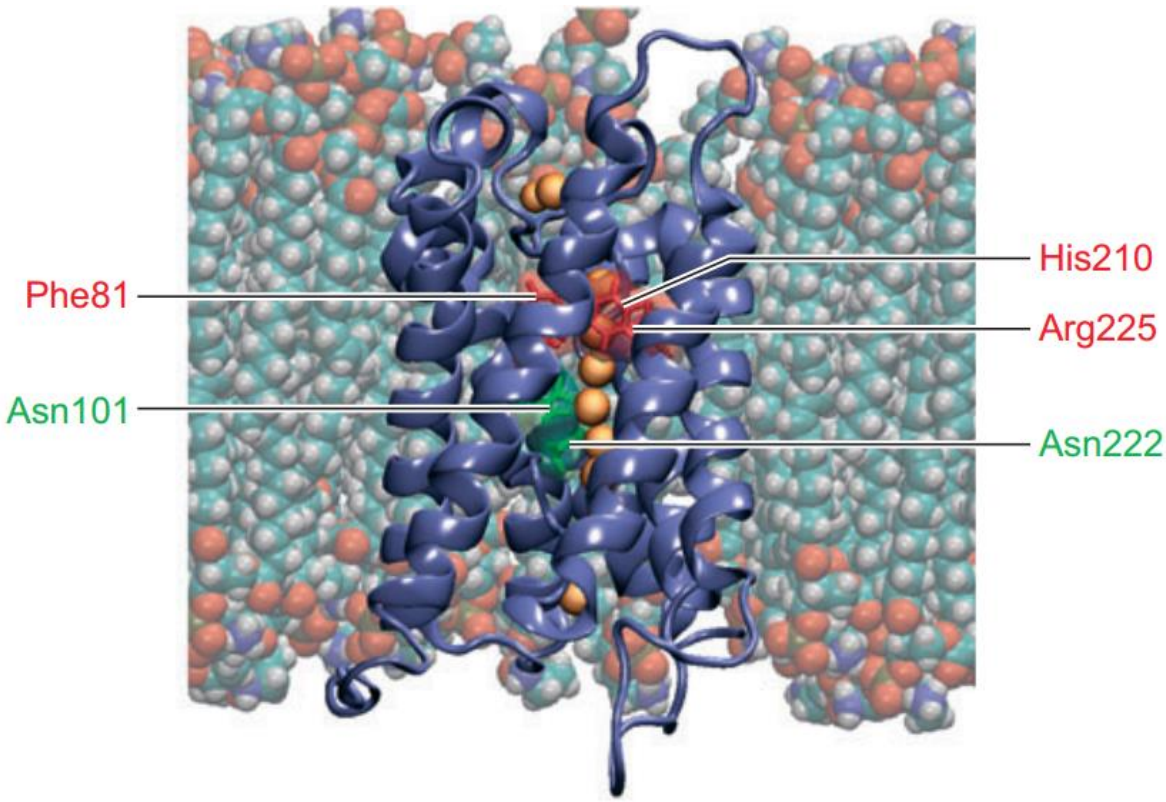


Figure 1.10- Representative structure of plant aquaporin. The two highly conserved Asn-Pro-Ala (NPA) motifs (represented by Asn101 and Asn222, green) are in close proximity to form one of the main pore constrictions. Another constriction called Ar/R (red) is formed on the extracytoplasmic side of the membrane by a spatial arrangement of aromatic (Ar) residues, such as Phe81 and His210, facing an Arg (R) residue, here Arg225. Proton transport is blocked by electrostatic repulsion in the Ar/R constriction and the dipole orientation of the water molecule by the two Asn residues of the NPA motifs. This results in a transient isolation of the water molecule within the single file of water molecules that fills the pore (orange spheres) (From Maurel et al., 2008).

V-1 Structure des aquaporines

Les aquaporines sont des canaux protéiques membranaires facilitant le passage de l'eau à travers les membranes cellulaires. Découvertes par Peter Agre en 1992, elles font partie d'une large famille protéique, les MIPs (Major Intrinsic Proteins), dont différents membres ont été identifiés tant chez les animaux et les bactéries que chez les végétaux (Agre, 2004). Les aquaporines végétales comportent de nombreuses isoformes, 35 ont été identifiées chez Arabidopsis (Johanson et al., 2001), 36 chez le maïs (Chaumont et al., 2001) et 28 chez la vigne (Fouquet et al., 2008).

Par homologie de séquences les aquaporines sont divisées en 4 familles présentant en général des localisations cellulaires spécifiques (Maurel et al., 2008). Les PIPs (Plasma membrane Intrinsic Protein, subdivisées en PIP1 et PIP2), et les TIPs (Tonoplastic Intrinsic Protein) sont les plus grandes familles (13 et 10 isoformes respectives chez Arabidopsis) et sont localisées respectivement au niveau des membranes plasmiques et tonoplastiques (Johanson et al., 2001; Quigley et al., 2001). La troisième famille, appelée NIP (Nodulin-26-like Intrinsic Protein), correspond aux aquaporines homologues de *Gm*Nod26 qui est exprimée au niveau des nodules racinaires chez le soja permettant la fixation symbiotique de N_2 (Wallace et al., 2006). La dernière famille, les SIPs (Small basic Intrinsic Portein), se localise plutôt au niveau du réticulum endoplasmique (Ishikawa et al., 2005). Cependant la localisation cellulaire des différentes familles d'aquaporines n'est pas stricte, notamment pour certaines isoformes de la famille des NIPs qui sont peuvent être présentes au niveau des membranes plasmiques (Ma et al., 2006).

Les aquaporines ont une structure protéique hautement conservée (Figure 1.10) (Törnroth-Horsefield et al., 2006). De poids moléculaire compris entre 21 et 34 kDa, elles sont composées de 6 domaines transmembranaires inclinées dans le plan (formant un "sablier") reliés par 5 boucles intra- (boucles B et D) et extra-cytoplasmiques (boucles A, C et E). Les parties N- et C-terminales sont exposées dans le cytosol (Maurel et al., 2008). La conformation spatiale de la protéine rend compte de sa sélectivité de substrat à travers différents mécanismes : taille d'exclusion, ponts hydrogène, interaction hydrophobe, répulsion électrostatique, orientation du dipôle (Figure 1.10). En tout, neuf types de pores ont été identifiés chez Arabidopsis (Wallace et Roberts, 2004) et un supplémentaire chez le riz et le maïs (Bansal et Sankararamakrishnan, 2007).

Par des analyses fonctionnelles dans des ovocytes de xénope ou dans des cellules de levure, il a été démontré que les aquaporines végétales permettaient le passage de l'eau indépendamment de la famille de MIP auxquelles elles appartenaient (Maurel, 2008), cependant leur performance varie jusqu'à 30 fois en fonction l'isoforme (Yang et Verkman, 1997).Outre leur rôle dans le transport de l'eau, les aquaporines sont impliquées dans le transport de petites molécules neutres comme par exemple le glycérol (Biela et al., 1999), l'urée (Gerbeau et al., 1999), l'ammonium (Holm et al., 2005), le CO_2 (Uehlein et al., 2007) et l'acide borique (Takano et al., 2006), salicylique (Ma et al., 2006) et lactique (Choi et Roberts, 2007).

V-2 Régulation de l'activité des aquaporines

V-2.1. Régulation transcriptionnelle

La régulation transcriptionelle des différentes isoformes d'aquaporine, en particulier les TIPs et les PIPs, a été étudiée dans différents organes et en réponse à différentes conditions expérimentales. Leur rôle dans le transport radial de l'eau mais aussi dans la régulation osmotique cellulaire a largement été décrit et revu (Maurel et al., 2008 et 2015; Bienert et Chaumont, 2014; Chaumont et Tyerman, 2014). Dans cette partie, nous nous intéresserons aux généralités puis à leur rôle dans la régulation de la transpiration. Il est important de noter que l'abondance des transcrits est rarement corrélée à la quantité de protéines (Suga et al., 2002; Lopez et al., 2003; Hachez et al., 2012).

D'une manière générale, l'abondance des transcrits des PIPs et TIPs est plus important dans les racines que dans les feuilles (Alexandersson et al., 2005; Heinen et al., 2009; Besse et al., 2011), mais il existe des aquaporines qui sont fortement ou exclusivement exprimées au niveau des feuilles (Sakurai et al., 2005; Azad et al., 2008). La localisation de l'expression des aquaporines est aussi fortement associée à la présence de barrières apoplastiques. Un haut niveau d'expression est retrouvé au niveau racinaire dans les cellules de l'exoderme et de l'endoderme, et au niveau foliaire dans les cellules périvasculaires (Vandeleur et al., 2009; Shatil-Cohen et al., 2011; Hachez et al., 2012; Prado et al., 2013), ce qui suggère un rôle important dans la régulation des flux hydriques au sein de la plante (Chaumont et Tyerman, 2014). Cependant chez la vigne, la récente étude de Gambetta et al. (2013) montre un niveau variable d'expression des aquaporines en fonction de l'âge des racines. La diminution du niveau d'expression de la plupart des aquaporines PIPs au niveau de la zone racinaire mature remet en cause le rôle des aquaporines dans le transfert d'eau au niveau des tissus subérisés.

A l'échelle journalière, la conductance de la plante et de ses différents compartiments est corrélée à sa transpiration dans de nombreuses espèces végétales (Tsuda et Tyree, 2000; Passioura et Munns, 1984; Henzler et al., 1999; Beaudette et al., 2007; McElrone et al., 2007; Vandeleur et al., 2009). La transpiration des plantes est aussi fortement corrélée à l'expression et/ou à l'activité de certaines aquaporines de la famille des PIPs et TIPs (Henzler et al., 1999; Cochard et al., 2007; Vandeleur et al., 2009; Hachez et al., 2012). A cette échelle de temps, la réorganisation des tissus conducteurs ne peut être impliquée dans la régulation de la conductance hydraulique, et l'importance des aquaporines est alors soulevée.

En situation de déficit hydrique, la régulation transcriptionnelle des aquaporines est variable selon les isoformes dont l'expression peut être à la fois sur- et sous-exprimées au niveau foliaire et racinaire (Suga et al., 2002; Jang et al., 2004; Alexandersson et al., 2005).

L'ABA est aussi capable d'altérer l'expression des aquaporines. Chez Arabidopsis, 6 et 5 isoformes sont sur-exprimées au niveau racinaire et aérien en présence d'ABA dans le milieu (Jang et al., 2004). Chez le maïs et la tomate, la génération de lignées sur-exprimant le gène NCED, conduit à une augmentation de la teneur hormonale, augmentant la conductivité hydraulique racinaire (Tompson et al., 2007, Parent et al., 2009) et le niveau de transcrits et de protéines de différentes isoformes d'aquaporines de la famille des PIPs (Parent et al., 2009). Au niveau foliaire l'ABA semble avoir un effet contraire sur la conductance de la feuille et l'expression des aquaporines notamment dans les cellules périvasculaires (Shatil-Cohen et al., 2011).

V-2.2. Régulation post-traductionnelle

Deux grands types de mécanismes sont impliqués dans la régulation du transport d'eau par les aquaporines : la fermeture du pore et la conformation spatiale cellulaire. L'analyse fonctionnelle en ovocyte de xénope couplée à des altérations pharmacologiques sur des protéines phosphatases et kinases a montré l'importance du processus de phosphorylation sur la régulation de l'ouverture du pore de nombreuses aquaporines des différentes familles (Maurel et al., 1995; Johansson et al., 1998; Guenther et al., 2003). Ces études montrent une réduction de la perméabilité membranaire en l'absence de phosphorylation sur certains résidus des aquaporines. Le rôle de OST1, une kinase de type SnRK2 étroitement associée à la transduction du signal ABA, a été récemment mis en évidence pour la phosphorylation d'une aquaporine de type PIP2.1 au niveau du plasmalemme des cellules de garde des stomates de Arabidopsis. Dans ce cas, la phosphorylation augmente la perméabilité membranaire à l'eau, ce qui suggère qu'en fonction du type de cellules, l'ABA peut conduire à des effets opposés selon les sites de phosphorylation concernés (Grondin et al., 2015).

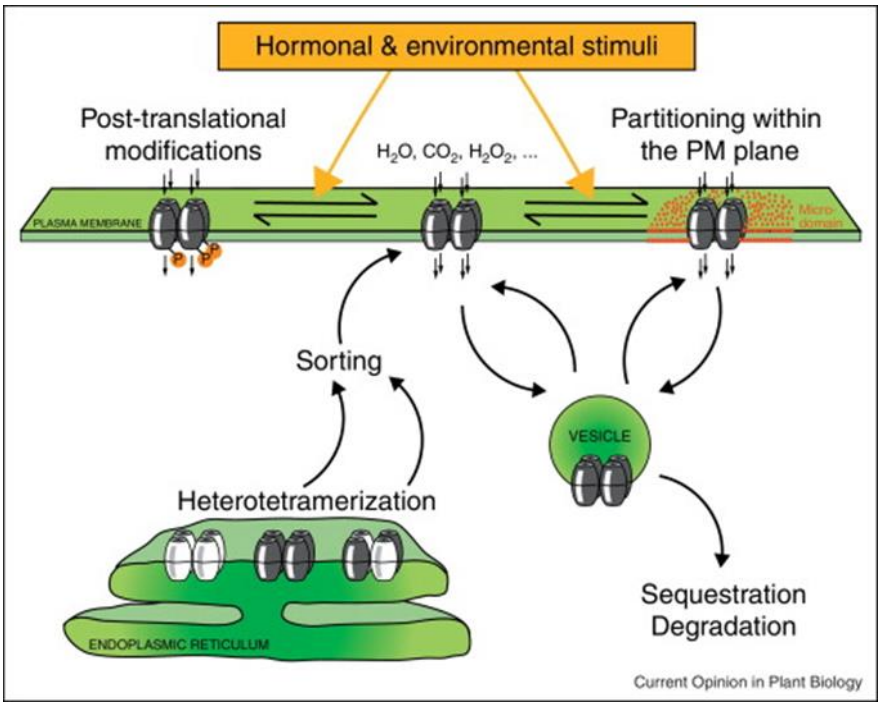


Figure 1.11- Schematic representation of aquaporin function and regulation in plant plasma membrane. Hetero-tetramerization of PIP1s (white) with PIP2s (gray) is thought to be crucial for proper sorting of the former to the plasma membrane. The figure shows that multiple stimuli (hormones, light and stresses) can act on several facets of PIP functionality: their post-translational modification profile, their lateral diffusion at the plasma membrane and their rate of cycling/endocytosis. The latter phenomenon is thought to be crucial for regulating PIP density at the plasma membrane and thereby cell water permeability. Note that, depending on modified site, phosphorylation of PIPs can affect their intrinsic activity or subcellular localization (From Verdoucq et al., 2014).

Chez différentes espèces, l'inhibition du transport d'eau par les aquaporines est également associé au pH alcalin, à la présence d'ions divalent (Ca2+) et de radicaux d'hydroxyle (Gerbeau et al., 2002; Henzler et al., 2004; Alleva et al., 2006; Boursiac et al., 2008). Dans le cas des radicaux d'hydroxyles, la diminution du transport d'eau provient de l'internalisation des aquaporines dans des vésicules membranaires réduisant la densité des aquaporines à la surface des membranes plasmiques (Boursiac et al., 2008).

De plus, les aquaporines de la famille des PIPs sont subdivisées en deux groupes les PIP1s et les PIP2s. Il a été montré que l'interaction physique entre PIP1s et PIP2s est nécessaire au processus de transport d'eau par certaines aquaporines de type PIP1 dans des ovocytes de xénope (Fetter et al., 2004) et dans des protoplastes de maïs (Zelazny et al., 2007). Le mécanisme sous-jacent implique la formation d'hétérotétramère PIP1/PIP2 au niveau du réticulum endoplasmique permettant l'adressage du complexe au niveau la membrane plasmique. Ce processus d'adressage protéique peut lui même être contrôlé par phosphorylation (Temmei et al., 2005) (Figure 1.11).

Du fait de leur rôle dans le transport de l'eau, de CO2 et d'éléments nutritifs (bore, ammonium...), les aquaporines sont impliquées dans de nombreux processus biologiques (croissance, allocation de nutriments, reproduction, germination...) et dans les interactions biotiques (symbioses mycorhizienne et rhizobiummale) qui ne seront pas détaillés dans ce manuscrit (revu en détail par Maurel et al., 2015).

V-3. Rôle des aquaporines dans la régulation de la transpiration en déficit hydrique

Chez la vigne, comme chez les autres espèces, la conductivité hydraulique des tissus est étroitement liée à l'expression de certaines aquaporines en situation non limitante en eau (Perrone et al., 2012), en situation de déficit hydrique (Vandeleur et al., 2009) et après réhydratation du sol (Galmés et al., 2007). Ces informations permettent à certains auteurs de proposer un mécanisme expliquant les différences de comportement transpiratoire par la régulation des flux hydriques à l’échelle de la plante avec une contribution déterminante du compartiment racinaire.

A l'échelle journalière, la relation entre la conductance racinaire et la transpiration est maintenue entre des variétés iso- et anisohydriques (Vandeleur et al., 2009). La réduction plus importante de la transpiration à midi pour la variété isohydrique serait liée à une diminution plus importante de sa conductance racinaire, associée à une subérisation plus marquée des cellules de l'endoderme racinaire. Pour la variété anisohydrique, le transport de l'eau par les cellules corticales est plus important et est lié à une plus forte expression de l'aquaporine PIP1.1. Pour l'auteur, l'augmentation du flux symplastique pour la variété anisohydrique permettrait le maintien des flux hydriques au sein de la plante permettant le maintien de l'ouverture stomatique. Pour la variété isohydrique, la fermeture stomatique pourrait permettre de limiter le phénomène d'embolie auquel elle apparait plus sensible (Tyree and Sperry, 1989, Alsina et al., 2007). La sur-expression de l'aquaporine TIP2.2, chez une variété isohydrique de tomate a permis d'augmenter la perméabilité cellulaire, et a conduit à un comportement anisohydrique en situation de contrainte hydrique (Sade et al., 2009), renforçant ainsi les hypothèses de Vandeleur et al. (2009). Finalement d'autre études montrent que l'état hydrique du sol peut modifier la réponse de type iso ou anisohydrique d'une variété en particulier en affectant la sensibilité stomatique au vpd (Rogiers et al., 2012, Domec et Johnson, 2012) et qu'un signal hydraulique à l'échelle de la plante entière pourrait être impliqué.

Dans ces études, les plantes sont cultivées sur leur propres racines et rien ne prouve que la relation étroite entre activité des aquaporines racinaires et contrôle stomatique à l'échelle de la plante entière soit maintenue en situation greffée (Lovisolo et al., 2010). Au niveau foliaire, une interaction forte entre signaux hydrauliques et chimiques a été mise en évidence pour expliquer la réponse stomatique à la contrainte hydrique (Shatil-Cohen et al., 2011; Pantin et al., 2013). Dans une plante greffée, les propriétés hydrauliques et les capacités de production des signaux hormonaux varient certainement au niveau racinaire et sont capables de modifier la réponse au niveau des feuilles (Alsina et al., 2011 ; Tramontini et al., 2013). La contribution de ces signaux d'origine racinaire dans le contrôle de la transpiration en situation greffée reste toujours à élucider.

Chapitre 2 : Variation in ABA metabolism and signalling among different grapevine genotypes in response to water-deficit

Short running title: ABA-mediated responses to water-deficit in grapevine genotypes

Highlight: In response to water-deficit, the abundance of transcripts for genes related to ABA metabolism and signalling separates *Vitis* genotypes according to their drought tolerance and their genetic background.

Authors: Landry Rossdeutsch[1], Everard Edwards[2], Sarah J. Cookson[1], François Barrieu[3], Gregory A. Gambetta[4], Serge Delrot[3] and Nathalie Ollat[1]*

Addresses:

1. UMR EGFV, ISVV-INRA, 210 chemin de Leysotte, 33882 Villenave d'Ornon, France
2. CSIRO Agriculture, Private Bag 2, Glen Osmond, SA 5064, Australia
3. UMR EGFV, ISVV-Bordeaux University, 210 chemin de Leysotte, 33882 Villenave d'Ornon, France
4. UMR EGFV, ISVV-Bordeaux Sciences-Agro, 210 chemin de Leysotte, 33882 Villenave d'Ornon, France

Email list:
landry.rossdeutsch@bordeaux.inra.fr
everard.edwards@csiro.au
sarah.cookson@bordeaux.inra.fr
fbarrieu@bordeaux.inra.fr
gregory.gambetta@agro-bordeaux.fr
serge.delrot@bordeaux.inra.fr
ollat@bordeaux.inra.fr (tel: +33557575930, fax: +33557575903, corresponding author)

Date of submission: 9th of October 2015
Number of tables = 2 and number of figures = 7
Figures in colour in print: Figure 4 and Figure 7
Total number of words: 9990
Supplementary data: number of figures = 3 and number of tables = 7

Abstract

Grapevine is considered as drought tolerant, but a large variability exists between *Vitis* genotypes. In this study the response of nine genotypes, differing for their drought adaptation in the field, was analysed in response to short-term water-deficit. Plant water status, transpiration, the concentration of ABA and its catabolites in sap, and transcript abundance of 12 genes involved in ABA metabolism and signalling were monitored in roots and shoots of young cuttings during 4 days of withheld irrigation. Although transpiration and ABA responses were well-conserved among the genotypes, multifactorial analyses separated *Vitis vinifera* varieties and *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids (all considered drought tolerant) from the other genotypes studied. Generally, *V. vinifera* varieties, followed by *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids, displayed more pronounced responses to water-deficit in comparison to the other genotypes. However, changes in transcript abundance in roots were more pronounced for *Vitis* hybrids than *V. vinifera* genotypes. Changes in *VviNCED1* and *VviABF1* abundance were associated with the response of *V. vinifera* genotypes, while changes in *VviNCED2* abundance were associated with the response of other *Vitis* genotypes. Interestingly, *V. vinifera* genotypes presented a constitutive lower expression of *VviSnRK2*.6 (an *AtOST1* ortholog) than the other genotypes, and RCAR receptors were not identified as key components of the genotypic variability of water-deficit responses. This study highlights the complexity of the mechanisms underlying genotypic variability for drought tolerance in grapevine and suggests that ABA metabolism and signalling contribute to these differences between genotypes.

Keywords: Abscisic acid, ABA signalling, genotypic variability, grapevine, roots, shoot, , transpiration, water potential, water-deficit

I- Introduction

Vitis vinifera is the major grapevine species grown and is commonly grafted onto rootstocks of other *Vitis* species. The diversity within *Vitis* genus provides a good basis for the selection of rootstocks utilized in order to protect against phylloxera and adapted to various environmental conditions. Among these conditions, water availability is particularly important because of its large influence on fruit yield and quality (Chaves *et al*., 2010). Grape growing is common across dry and semi-dry climates and is traditionally non-irrigated (Lovisolo *et al*., 2010). Despite the fact that grapevines are well adapted to dry climates (Chaves *et al*., 2010), the impact of drought on grape growing may increase in the context of climate change and will lead to changes in viticultural practices and/or the locations suitable for grape growing (Malheiro *et al*., 2010). Drought negatively impacts grape yields by reducing bud fertility, fruit set and growth (Keller, 2015). There are large differences in drought tolerance among grapevine genotypes in the field (Chaves *et al*., 2010 and references cited therein).

Abscisic acid (ABA) is a stress response and signalling molecule, which plays a central role in the growth, development and adaptation of plants to environmental stresses (Finkelstein 2013; Dalal and Chinnusamy, 2015, Cramer *et al.*, 2011). One of the main functions of ABA is to regulate plant water balance and osmotic stress tolerance. ABA mediates numerous responses to drought, including stomatal closure and control of water loss from the plant (Assmann, 2003; Christmann *et al*., 2007; Tardieu *et al*., 2010). Grapevines were among the first species in which a direct role of ABA in stomatal closure was demonstrated (Loveys and Kriedemann, 1974). Subsequently, ABA was shown to be associated with water-deficit responses at the root, leaf, shoot and fruit levels (Ferrandino and Lovisolo, 2014). Genotypic differences in leaf ABA concentration have been known for many decades (Fregoni *et al*., 1977; Scienza *et al*., 1980). Among *Vitis* genotypes, differences in stomatal sensitivity to drought have been associated with [ABA] in xylem sap or leaves (Soar *et al*., 2006*b*), and there is variability in stomatal sensitivity to ABA (Scienza, 1983; Hopper *et al*., 2014; Tramontini *et al*., 2014).

Under drought, ABA is synthesized in roots (Simonneau *et al*., 1998), shoots (Christmann *et al.*, 2007) and leaves (Endo *et al*., 2008). ABA synthesis in roots and its transport to the leaves has been considered the main signalling pathway transducing soil water status (Schachtman and Goodger, 2008; Allario *et al*., 2013; Pérez-Pérez and Dodd, 2015) because of the correlation between stomatal conductance and [ABA] in xylem sap (Tardieu and Simonneau, 1998; Thompson *et al*., 2007; Tardieu *et al*., 2015). In addition hydraulic signals could modulate stomatal closure either directly, and/or via ABA production in the leaf (Christmann *et al*., 2007; Mcadam and Brodribb, 2015). Furthermore, recent studies suggest that the extent to which stomatal conductance is controlled by either hydraulic signals, ABA or their interaction could be associated with genetic differences in responses to drought (Pantin *et al*., 2013; Mcadam and Brodribb, 2015). In grafted plants including grapevine, it was shown that rootstocks affect both [ABA] sap and stomatal sensitivity to drought (Soar *et al*., 2006*a*; Allario *et al*., 2013; Speirs *et al*., 2013).

ABA biosynthesis begins in plastids with the cleavage of a C40 carotenoid precursor that is further epoxidized to 9-cis-violaxanthin. Then 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) catalyses the oxidative cleavage of 9-cis-violaxanthin to form xanthonin (Qin and Zeevaart, 2002). These products enter the cytosol where a dehydrogenase/reductase and an aldehyde oxidase convert xanthonin into ABA. The vast majority of ABA is catabolized to its inactive form by an ABA 8’-hydroxylase. The spontaneous cyclization of hydroxylated ABA results in the production of phaseic acid (PA) which is further reduced to dihydrophaseic acid (DPA) (Finkelstein, 2013). In grapevine it was shown that the expression of NCED genes in both leaves and roots is well correlated with [ABA] in xylem sap and stomatal opening (Soar *et al*., 2006*a*; Speirs *et al*., 2013). In addition, changes in ABA catabolism near its site of action could optimize gas exchange to the local leaf environment as the expression of ABA catabolic genes in leaves appear to change in response to vapour pressure deficit (VPD) (Speirs *et al*., 2013).

The ABA signalling pathway involves a cascade of receptors, phosphatases, kinases and transcription factors (TFs), which have been well characterized (Ma *et al*., 2009; Park *et al*., 2009; Chan, 2012; Finkelstein, 2013; Lumba *et al*., 2014; Dalal and Chinnusamy, 2015). The key components of this system are the protein receptor complex PYR/PYL/RCAR (PYRABACTIN RESISTANCE1)/(PYR1-LIKE)/(REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTORS), PP2Cs (PROTEIN PHOSPHATASE 2C) and SnRK2s (SUCROSE NON-FERMENTING-RELATED KINASE 2). In the absence of ABA, PP2Cs inactivate SnRK2s kinases by physical interaction and direct de-phosphorylation. The binding of ABA to PYR/PYL/RCAR leads to a conformational change in the receptor enabling its interaction with PP2Cs and thereby activating the SnRK2s. The SnRK2s released from PP2C inhibition are then able to activate (via phosphorylation) downstream TFs and ABA-responsive element binding factors (ABFs or AREBs), leading to the induction of ABA-responsive genes (Chan, 2012; Finkelstein, 2013; Dalal and Chinnusamy, 2015; Yoshida *et al.*, 2015). Most of the components of the ABA signal transduction pathway have been identified in the *V. vinifera* genome (Gambetta *et al*., 2010; Boneh *et al*., 2012*a*,*b*). The grapevine genome encodes at least seven PYR/PYL/RCAR ABA receptors, six PP2Cs, six SnRK2 kinases and several ABA-related TFs.

Under abiotic stress conditions, including water-deficit, most of the ABA biosynthetic and catabolic genes are transcriptionally induced (Nambara and Marion-Poll, 2005; Chan, 2012; Seiler *et al*., 2014; Osakabe *et al.*, 2014). In contrast, the transcriptional regulation of ABA signalling pathway genes is more varied. For example, some genes encoding PYR/PYL/RCAR receptors are repressed in both leaves and roots by abiotic or biotic stresses, or ABA treatments, but others are unaffected or transiently induced (Sun *et al*., 2011; Chan, 2012; Seiler *et al.*, 2014; Dalal and Inupakutika, 2014). In barley, the expression of some PYR/PYL/RCAR genes was unchanged after 4 days of water-deficit, but reduced after 12 days of water-deficit, indicating that the duration of the treatment affects the response (Seiler *et al*., 2014). PP2C genes are generally induced under stress conditions (Xue *et al.*, 2008; Sun *et al*., 2011; Boneh *et al*., 2012*a*,*b*; Chan, 2012; Seiler *et al*., 2014; Dalal and Inupakutika, 2014). In Arabidopsis, the induction of SnRK2 gene expression depends on the member of the gene family and stress type (Chan, 2012), and the expression of the transcriptional regulators of ABA signalling (e.g. ABFs) increases in response to ABA and water-deficit (Fujita *et al*., 2005; Chan, 2012; Yoshida *et al*., 2015).

Table 2.I. Genotypes used in this study, including parentage and drought sensitivity characteristics according to Carbonneau (1985) and Schultz (1996).

Genotypes	Usual name	Parentage	Drought sensitivity
Riparia Gloire de Montpellier	RGM	*V. riparia Michaux*	Highly sensitive
Millardet et de Grasset 101-14	101-14Mgt	*V. riparia* x *V. rupestris*	Sensitive
Téléki-Fuhr Selection Oppenheim n°4	SO4	*V. riparia* x *V. berlandieri*	Sensitive
Couderc 161-49	161-49C	*V. riparia* x *V. berlandieri*	Medium
Millardet et de Grasset 41B	41B	*V. vinifera L.* x *V. berlandieri*	Medium
Richter 110	110R	*V. berlandieri* x *V. rupestris* Martin	Tolerant
Ruggeri 140	140Ru	*V. berlandieri* x *V. rupestris* du Lot	Tolerant
Syrah	Syrah	*V. vinifera*	Tolerant
Grenache	Grenache	*V. vinifera*	Drought Avoiding

The aim of this work was to determine whether the commonly observed differences in drought adaptation of nine grapevine genotypes were associated with differences in ABA metabolism and the expression of genes involved in ABA biosynthesis, catabolism and transduction pathways. Plant and soil water status, plant transpiration, the content of ABA and its catabolites, and the transcript abundance of 12 genes involved in ABA metabolism and signalling (previously described in the literature in grapevine, Soar *et al.*, 2004; Boneh *et al*., 2012*a*, *b*; Speirs *et al.*, 2013) were characterized in response to withheld irrigation in roots and leaves. These data were used to characterize the variability existing among *Vitis* genotypes, especially the drought tolerant ones, in terms of the contribution of ABA to water-deficit responses.

II- Material and methods

II-1. Plant material and water-deficit treatments

The responses of nine grapevine genotypes to water-deficit were analysed; the genotypes selected were commercial inter-specific hybrids and two *V. vinifera* varieties with known differences in response to drought (Table 2.I) (Carbonneau, 1985; Schultz, 1996). Hardwood was stored in a cold chamber (4°C) during the winter, and after one-night of rehydration in water at 25°C, single-node cuttings were prepared and planted in perforated plastic bags in 0.8 L pots filled with exactly 600 g of dry sand and grown in a greenhouse. Plants were watered with standard nutrient solution (Tandonnet *et al.*, 2010) and shoots were trained to a single stem until they reached 15 fully expanded leaves. The plants were then transferred to a growth chamber on a turntable with a day/night temperature of 25°C/19°C and a VPD of 1.27kPa/0.11kPa. The average photosynthetic flux density at the canopy level was around 400 µmol m^{-2} sec^{-1} during a 16 h light cycle.

Three days before the experiment, leaf area was normalized to approximately 400 cm² by removing entire leaves from the base of the stem. Leaf area was estimated from the relationship between leaf area (measured with a planimeter (Li 3100, Li-COR Biosciences, Lincoln, NE, USA)) and leaf main vein length for each genotype in a separate experiment (data not shown). Leaf normalization resulted in a coefficient of variation of 3.4% across genotypes (Table S2.I). Nevertheless, some significant differences remained for the genotypes RGM and 161-49C.

Plants were irrigated at field capacity and plastic bags were tied around the cutting wood in order to prevent water loss from substrate evaporation. A water-deficit treatment was applied by withholding irrigation for 4 days. Plants were sampled daily from day 1 (24h after the last irrigation, defined as non-stressed) to day 4 (water-stressed), during the last hour of night period. Three plants per genotype were used for water potential measurements and xylem sap sampling, and three plants were sampled for gene expression analysis (2 cm long root tips and leaves). Just before sampling, leaf area of each plant was determined for the six plants as described above. Fresh biomass was determined for each compartment (leaves, stem, cutting and roots) for all samples. All pots were weighed daily during the last hours of the night, prior to irrigation, to calculate daily transpiration.

II-2. Determination of water potential and xylem sap collection

Each plant stem was first cut at 5 cm above its basal end. The basal part, including the roots, cutting and some stem, was considered as the root part. Then the upper part of the stem was cut at 2 cm under the fifth apical leaf and the apical section was considered as the shoot part. The root (still enclosed in the plastic bag) and shoot parts were inserted concomitantly into two pressure chambers equipped with digital LCD manometers (SAM Précis 2000, Gradignan, France) to measure simultaneously root and stem water potential. When equilibrium of pressure was obtained and water potential recorded, an over-pressure of 0.5 MPa was used for xylem sap collection (approximately 35 µL) after removing of the first drop of xylem sap. Xylem sap samples were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C prior to freeze-drying (Alpha LSC 1-4, Christ, Germany) and subsequent analysis.

II-3. Analysis of ABA and its derivatives

[ABA], [PA] and [DPA] in xylem sap were measured using liquid chromatography/mass spectrometry (Agilent 6410 Triple Quadrupole LC-MS/MS with Agilent 1200 series HPLC, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, USA) using a stable isotope dilution assay (Speirs *et al.*, 2013). The dry samples of xylem sap were dissolved in 30 µL 10% acetonitrile (v/v) containing 0.05% acetic acid (v/v). This acetonitrile solution also contained the deuterated internal standards D3-7’,7’,7’-DPA, D3-7’,7’,7’-PA and D6-3’,5’,5’,7’,7’,7’-ABA, all at a concentration of 100 pg/µL. The column used was a Phenomenex C18(2) 75mm×4.5mm×5µm and column temperature was set at 40°C. The solvents used were nanopure water and acetonitrile, both added with 0.05% acetic acid (v/v). Samples were eluted with a linear 15 min gradient starting at 10% acetonitrile (v/v) and ending with 90% acetonitrile (v/v). Compounds were identified by retention times (DPA=7.25-7.75, PA=9.0-9.5 and ABA=10.5-11.0 min) and multiple reaction monitoring of mass-to-charge ratio (m/z) for parent and product ions of native (DPA=281/284, PA=279/282 and ABA=263/269) and deuterated internal standards (DPA=171/174, PA=139/142 and ABA=153/159) (Speirs *et al.*, 2013).

II-4. RNA extraction and qPCR

Root tips and entire leaves were snap frozen in liquid nitrogen and ground with a ball mill (MM 400, Retsch GmbH, Hann, Germany). Total RNA was extracted from 150 mg of fresh matter according to Reid *et al.* (2006). Genomic DNA contamination was removed with the Turbo DNA-free kit (Life technologies, according to the manufacturer's instructions) and reverse transcription was performed using Superscript III (Invitrogen) using oligo dT primers and 1.5µg of RNA according to the manufacturer's instructions. Transcript abundance of *VviNCED1, VviNCED2, VviHyd1, VviHyd2, VviRCAR5, VviRCAR6, VviPP2C4, VviPP2C9, VviSnRK2.1, VviSnRK2.6, VviABF1* and *VviABF2* was analysed on a Biorad CFX96 machine using iQ Sybr Green Supermix (according to the manufacturer's instructions). The transcript abundance of studied genes was normalized to geometric mean of *VviGAPDH*, *VviEF1γ* and *VviActin* expression (Reid *et al.*, 2006). The relative gene transcript abundance was calculated according to the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method (Livak and Schmittgen, 2001). *VviRCARs, VviPP2Cs* and *VviSnRK2s* qPCR primers used were from Boneh *et al.* (2012*a*,*b*) and the others were designed using Beacon Designer (version 7, CA, USA) (Table S2.II). PCR efficiency for each primer pair was calculated using LinRegPCR (Ruijter *et al.*, 2009).

II-5. Statistical analyses

Genotype effect on biomass allocation and transpiration on day 1 and 4 was determined using a one-way analysis of variance (ANOVA, $p < 0.05$, with Tukey's Honest Significant Difference (HSD) test). Tissue and genotype effects on transcript abundance in non-stressed and water-stressed plants were determined using a two-way ANOVA ($p < 0.05$, with Tukey's HSD test). All regressions were fitted using Sigma Plot (Version 11, Systat Software) and, when necessary, compared by Fischer-Snedecor test ($p < 0.05$). Global regression (all genotypes) and genotype-specific regressions were established between xylem sap hormone content and water potential in shoot and root. The heatmaps for transcript abundance were created using R v.2.15.3 (R Development Core Team, 2008). Discriminant and principal component analysis, and the Pearson correlation matrix were done using XLStat (Addinsoft SARL., Paris, France). Mean transcript abundance value and ABA metabolite content for each day and for each genotype were used for principal component analysis.

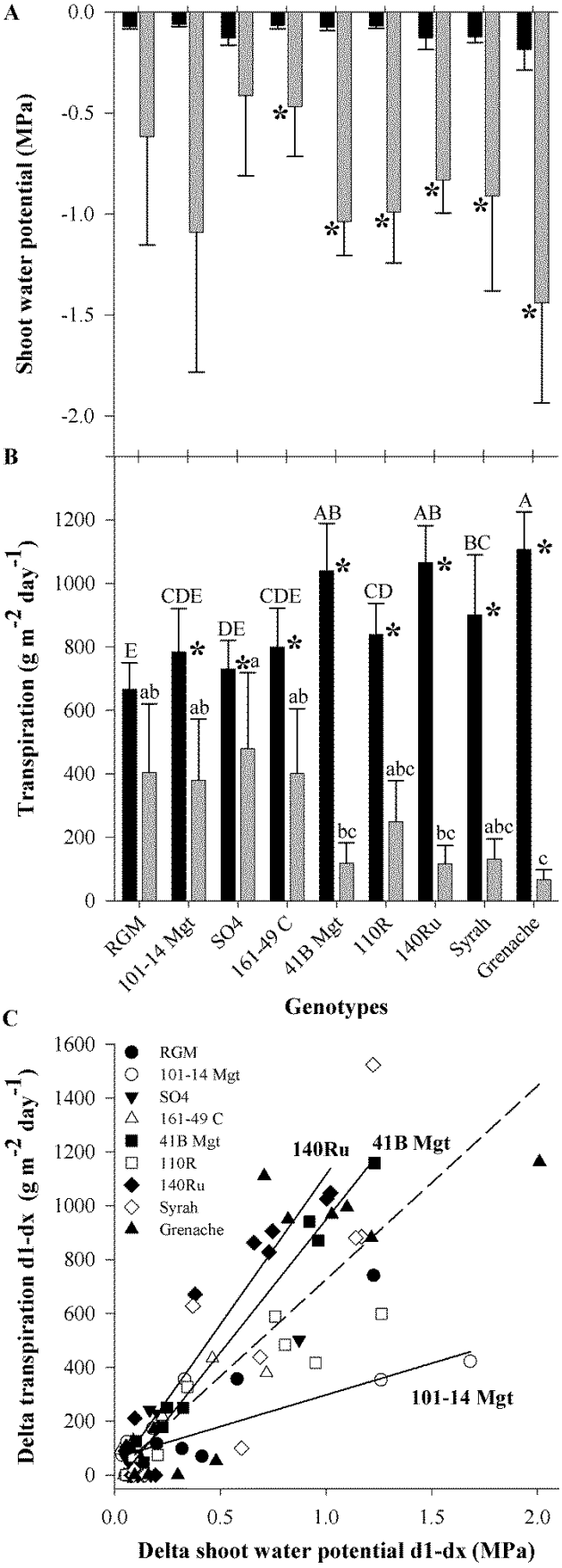


Figure 2.1. Physiological responses of nine grapevine genotypes to water-deficit. Shoot water potential (A) and transpiration (B) 1 day (black bars) and 4 days (grey bars) after withholding irrigation. For A and B, bars represent mean ± standard deviation (n = 3) and asterisks show significant water-deficit effect (one-way ANOVA, p-value < 0.05). For B, values among genotypes with the same letter are not statistically different (day 1 and day 4 analysed separately with an ANOVA on ranks, p-value < 0.05). The relationship between the changes in transpiration and shoot water potential (C), key to symbols: RGM, filled circle; 101-14Mgt, open circle; SO4, inversed filled triangle; 161-49C, open triangle; 41B, filled square; 110R, open square; 140Ru, filled diamond; Syrah, open diamond; Grenache, filled triangle. The dashed line shows the global linear regression for all nine genotypes, solid lines show those genotypes with a significantly different relationship from the global linear regression (Fischer-Snedecor test; p < 0.05).

III- Results

III-1. Genotype-specific transpiration responses to water-deficit

Four days after withholding irrigation, average pre-dawn shoot water potential was reduced in all genotypes, although the decrease was not statistically significant for RGM, 101-14Mgt, and SO4 (Fig. 2.1A). Average pre-dawn water potentials ranged between -0.4 to -1.5 MPa representing moderate to severe levels of water-deficit. The genotype effect was not statistically significant (Fig. 2.1A). Water potential was maintained until soil water content reached 0.04 g H_2O g^{-1} of dry soil, and then it decreased (Fig. S2.1).

Plant transpiration was significantly reduced by water-deficit in all genotypes except RGM (Fig. 2.1B). A significant genotype effect was observed at days 1 and 4. The response of the genotypes can be separated into two groups: RGM, 101-14Mgt, SO4 and 161-49C were characterized by relatively low transpiration at day 1 and higher transpiration than other genotypes at day 4, whereas 41B, 140Ru and Grenache were characterized by relatively high transpiration at day 1 and low transpiration at day 4, with 110R and Syrah being intermediate. Transpiration per plant was reduced in response to decreasing water potential (Fig. 2.1C). 140Ru and 41B dramatically decreased transpiration in response to decreasing shoot water potential, whereas 101-14Mgt decreased transpiration less than the other genotypes.

Table 2.II. Mean of abscisic acid (ABA), phaseic acid (PA) and dihydrophaseic (DPA) in stem and root xylem sap for non-stressed (water potential > -0.2 MPa) and water-stressed (water potential < -0.8 Mpa) plants. Values among genotypes with the same letter are not statistically different (Tukey-HSD), p-values of two-way ANOVA are presented.

	Non-stressed						**Water-stressed**					
	Stems			**Roots**			**Stems**			**Roots**		
	ABA	PA	DPA	ABA	PA	DPA	ABA	PA	DPA	ABA	PA	DPA
RGM	370^{bc}	417^{bcd}	6^{d}	242^{bc}	148^{e}	7^{d}	7813^{ab}	2690^{abc}	188^{c}	8180^{ab}	1722^{abcd}	253^{c}
101-14Mgt	221^{bc}	150^{e}	4^{d}	162^{c}	76^{e}	6^{d}	4677^{ab}	680^{cd}	33^{c}	3883^{ab}	575^{cd}	123^{c}
SO4	322^{bc}	470^{b}	9^{d}	258^{bc}	144^{e}	9^{d}	4701^{ab}	1186^{bcd}	53^{c}	3930^{ab}	472^{cd}	117^{c}
161-49C	286^{bc}	425^{bc}	8^{d}	180^{c}	151^{e}	8^{d}	-	-	-	-	-	-
41B	343^{bc}	604^{b}	29^{bc}	378^{bc}	111^{e}	16^{cd}	9624^{ab}	2977^{ab}	255^{c}	5205^{ab}	639^{cd}	261^{bc}
110R	212^{bc}	209^{cde}	5^{d}	175^{c}	97^{e}	9^{d}	7219^{ab}	1436^{bcd}	110^{c}	3390^{b}	506^{cd}	206^{c}
140Ru	317^{bc}	528^{b}	9^{d}	213^{bc}	191^{de}	9^{d}	8666^{ab}	2664^{abc}	126^{c}	6293^{ab}	969^{cd}	229^{c}
Syrah	596^{ab}	75^{e}	107^{a}	135^{c}	16^{e}	32^{b}	10205^{ab}	464^{cd}	721^{ab}	9652^{ab}	284^{d}	797^{a}
Grenache	910^{a}	1091^{a}	38^{b}	307^{bc}	104^{e}	10^{d}	13199^{a}	3870^{a}	260^{c}	12742^{a}	1620^{bcd}	304^{bc}

p-value	ABA	PA	DPA	ABA	PA	DPA
Genotype	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Tissues	<0.001	<0.001	<0.001	0.133	<0.001	0.181
Interac.	0.004	<0.001	<0.001	0.829	0.006	0.999

III-2. Genotype-specific differences in ABA metabolism for non-stressed and water-stressed plants

[ABA] and its degradation products, [PA] and [DPA], were determined in the xylem sap collected from root and shoot parts. Globally, [ABA], [PA] and [DPA] were strongly correlated between root and shoot xylem sap (Fig. S2.2) and both [PA] and [DPA] were strongly correlated with [ABA] (Fig. S2.3). Average [ABA], [PA] and [DPA] in shoot and root xylem sap for the different genotypes for non-stressed and water-stressed plants are presented in Table 2.II. Concentrations were significantly affected by genotype. Water-stressed Grenache had the highest [ABA] in shoot and root xylem sap, but the only significant difference was with 110R in roots. Grenache had significantly the highest [PA] in the shoot xylem sap in comparison with all the non-stressed genotypes and in comparison with water-stressed Syrah, 110R, SO4 and 101-14Mgt. [PA] was the highest in root xylem sap of water-stressed Grenache and RGM, but not significantly in comparison with the other genotypes. Syrah was characterized by significantly higher [DPA], regardless of plant part and water status. For water-stressed plants, [DPA] was significantly lower in shoot xylem sap for 140Ru, 110R, SO4 and 101-14Mgt, in comparison with Syrah. In root xylem sap, there was a significant genotype effect, but mean separation was only significant for Syrah.

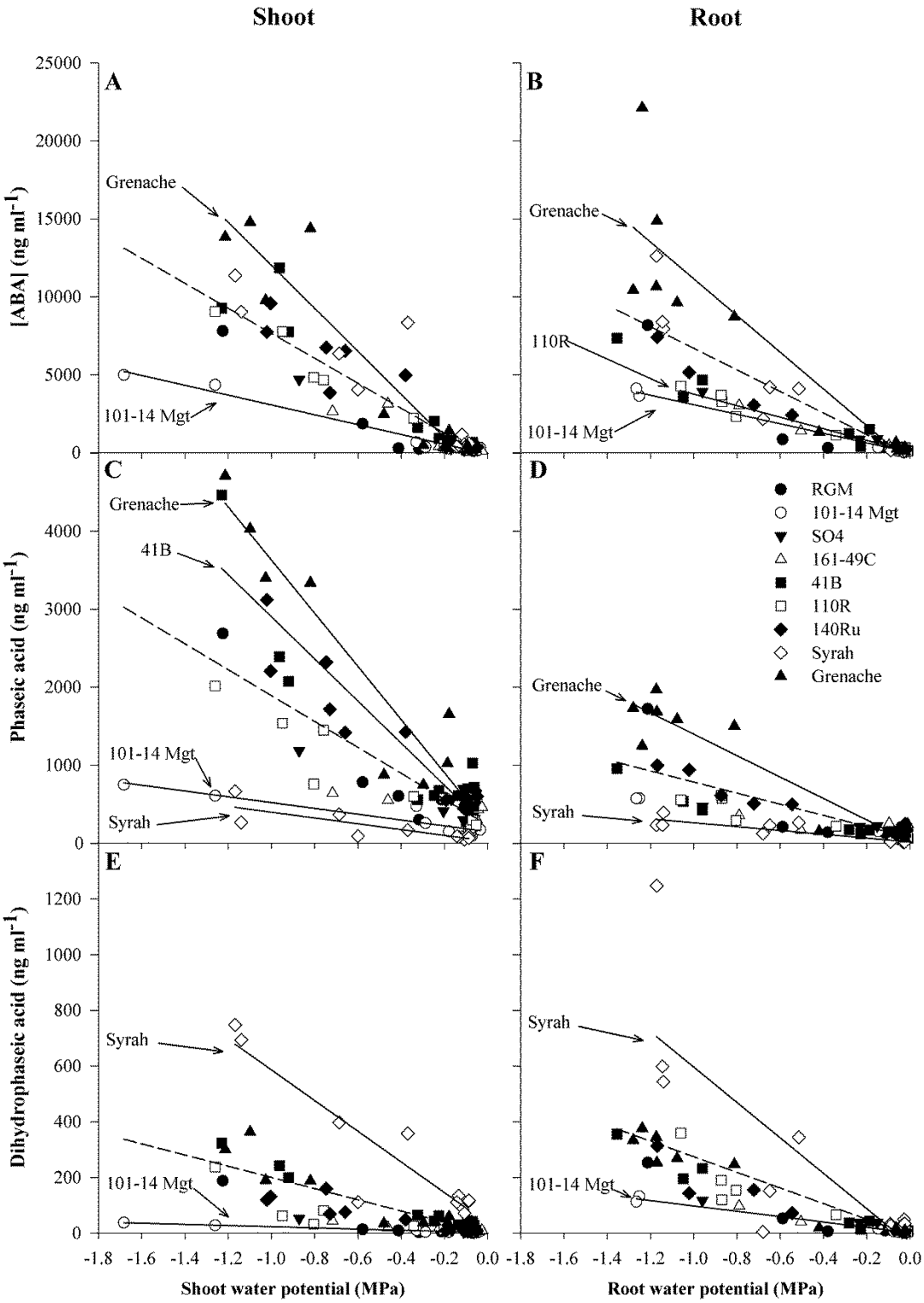


Figure 2.2. Relationships between water potential and the accumulation of abscisic acid (ABA) (A, B), phaseic acid (C, D) and dihydroxyphaseic acid (D, E) in root (A, C & E) and shoot (B, D & F) xylem sap during a four day water-deficit treatment in nine grapevine genotypes (key to symbols as shown for Figure 2.1C). The dashed line shows the global linear regression for all nine genotypes, solid lines show those genotypes with a significantly different relationship from the global linear regression (Fischer-Snedecor test; $p < 0.05$).

III-3. Changes of [ABA], [PA], and [DPA] with plant water status

The [ABA], [PA] and [DPA] increased significantly in the xylem sap of the shoots and roots while water potential decreased for all genotypes. General regressions and significantly different genotype-specific regressions are presented in Fig. 2.2.

The general responses of [ABA], [PA] and [DPA] to plant water potential were significantly different between the shoot and root xylem sap (Fig. 2.2, $p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.05$ respectively), with a higher increase of concentration in shoot xylem sap in comparison to root xylem sap for ABA and PA, and the opposite for DPA. As plant water potential became more negative, Grenache displayed the greatest increase in [ABA] and [PA]. 101-14Mgt showed the smallest [ABA] increase in both shoot and root xylem sap. 110R was characterized by a significantly smaller increase of [ABA] only in root xylem sap. Syrah showed the smallest increase in [PA] in both plant parts. Additional significant differences in [PA] between genotypes were found in shoot xylem sap for 41B and 101-14Mgt. In comparison to the bulk of the genotypes, 41B and 101-14Mgt were characterized by a greater and smaller increase in [PA] respectively. For [DPA], Syrah displayed a more pronounced increase with decreasing water potential, while the opposite was observed for 101-14Mgt.

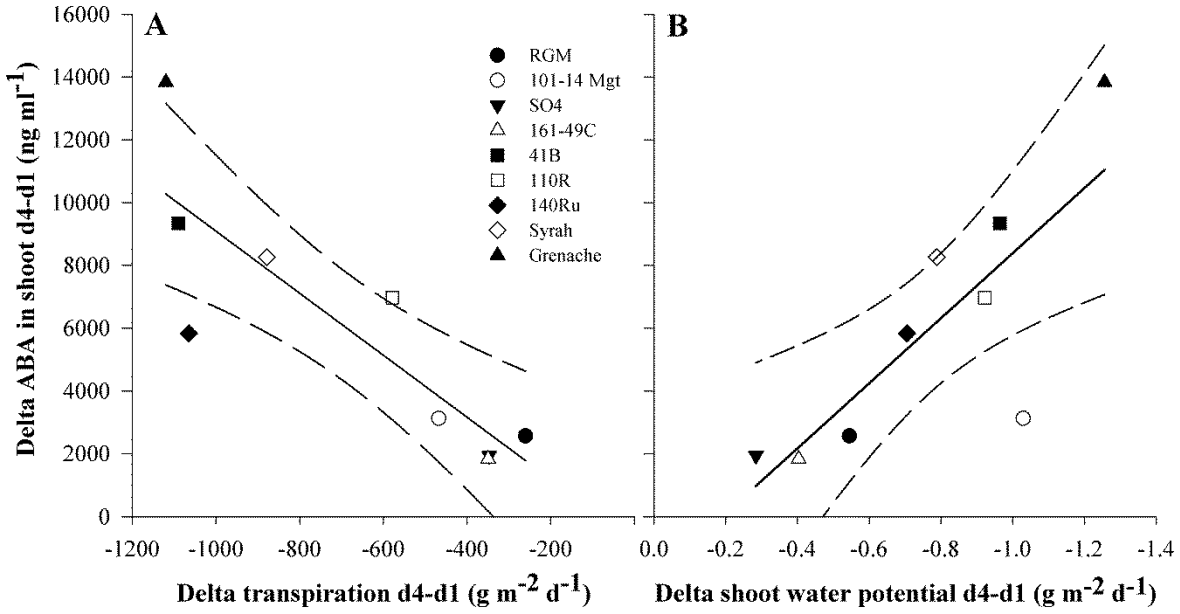


Figure 2.3. Relationship between the change from day 1 to day 4 after withholding irrigation in abscisic acid (ABA) concentration in the shoot sap and transpiration (A) and shoot water potential (B) for nine grapevine genotypes (key to symbols as shown for Figure 2.1C). Each point represents difference between means at day 4 and at day 1 (n = 3). The black lines show the global linear regression for all nine genotypes, dashed black lines show the 95% interval of confidences for the regressions.

From day 1 to day 4 without irrigation, the changes in [ABA] in shoot sap were highly correlated to changes in transpiration (Fig. 2.3A, $R^2 = 0.86$, $p<0.01$) and pre-dawn shoot water potential (Fig. 2. 3B, $R^2 = 0.80$, $p<0.01$) across all the genotypes. Similar results were obtained for roots (data not shown). Several genotypes were situated outside of the confidence intervals of the regressions. Grenache had the largest difference in both [ABA] and transpiration, while 140Ru had much smaller differences in [ABA] with similarly large reduction in transpiration. The genotype 101-14Mgt was also an outlier in the relationship between change in [ABA] and shoot water potential, showing a much smaller increase of [ABA] in relation to the decrease in pre-dawn shoot water potential.

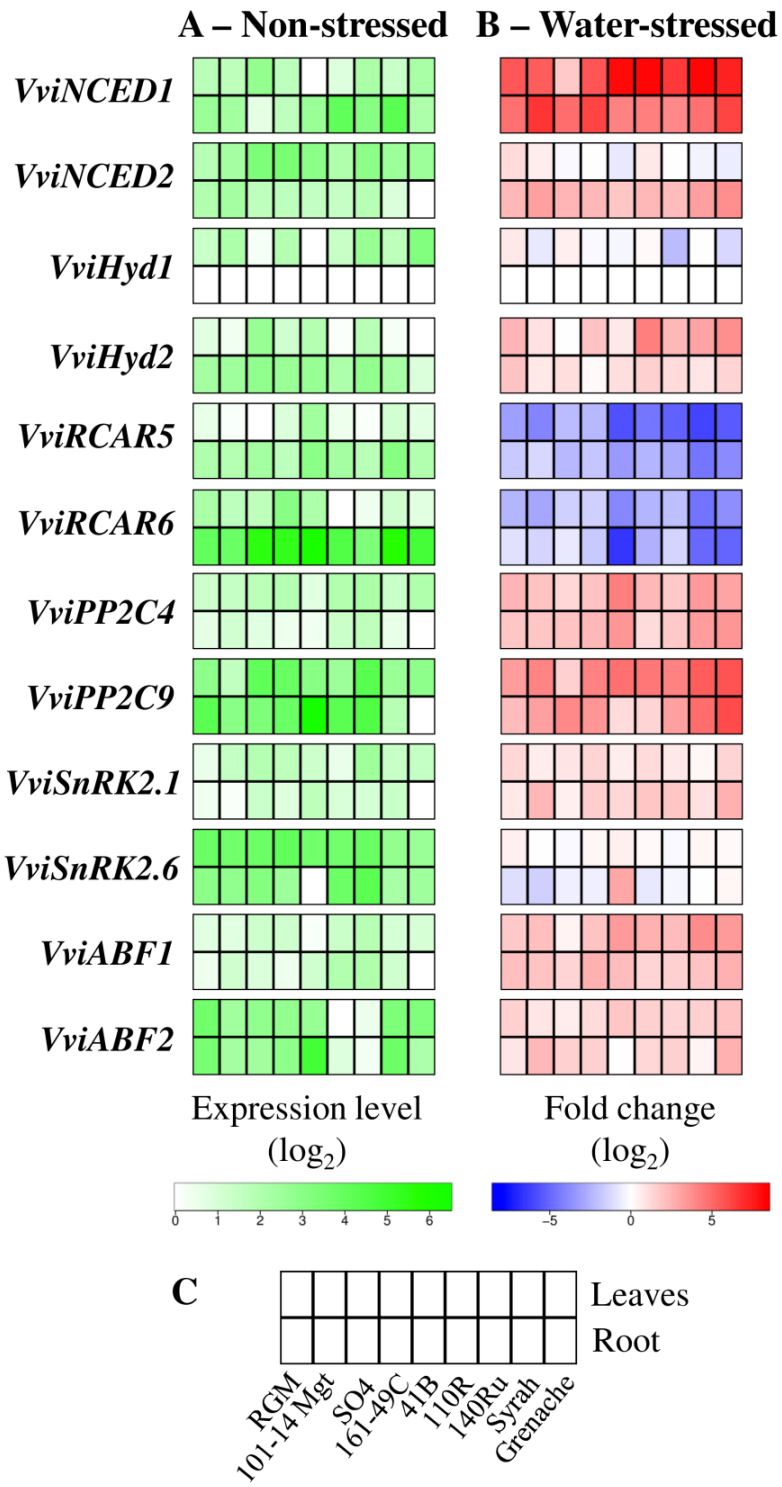


Figure 2.4. Heatmaps of the transcript abundance for genes associated with abscisic acid in the leaves and roots of nine grapevine genotypes during a water-deficit treatment. Transcript abundance at day 1 after withholding irrigation (non-stressed plants) (A), green shade indicates the level of expression relative to the lowest value (n = 3). Transcript abundance changes from day 1 to day 4 after withholding irrigation (water-stressed plants) (B), the blue and red shades indicate the extent of gene repression and induction respectively (n = 3). Blocks of squares show the level of gene expression in the leaves and roots of nine different grapevine genotypes (C) for each gene studied.

III-4. Effects of water-deficit on transcript abundance of ABA related genes

The transcript abundance of 12 ABA-related genes was studied in non-stressed (Fig. 2.4A) and water-stressed plants (Fig. 2.4B); full details of the analysis are given in Table S2.III-S2.V.

In non-stressed plants, the abundance of all transcripts was modified significantly by the genotype and by the plant tissue, with the exception of *VviNCED1* for the genotype and *VviABF1* for the plant tissue (Fig. 2.4A and Table S2.III).

The abundance of *VviNCED1* transcripts was higher in roots than in leaves for most genotypes whereas *VviNCED2* was significantly higher in leaves. For *VviNCED2*, Grenache had the lowest abundance in roots, and SO4 and 161-49C the highest in leaves. *VviHyd1* was higher in leaves compared to roots, whereas *VviHyd2* was predominant in roots. For *VviHyd1* in the leaves, it was lower for SO4 and 41B, and higher in Grenache and 140Ru. The abundance of *VviHyd2* was low in leaves of 101-14Mgt, 110R, Syrah and Grenache, and slightly higher in roots of all genotypes except Grenache. The abundance of *VviRCAR5* and *VviRCAR6* was generally higher in roots than in leaves. *VviPP2C4* was the predominately expressed isogene with an average transcript abundance 10-fold higher than *VviPP2C9* in both roots and leaves. *VviPP2C4* was significantly higher in leaves than in roots. Grenache was characterized by the lowest abundance of *VviPP2C4* transcripts in roots, but one of the highest in leaves along with 140Ru. The abundance of *VviSnRK2.1* was significantly lower in roots of Grenache and higher in the leaves of 140Ru. Grenache and Syrah had lower levels of *VviSnRK2.6* in both tissues with the exception of 41B in roots. The abundance of the *VviABF1* was significantly affected by the genotype only, with the lowest expression observed in the leaves of 41B and in the roots of Grenache, and the highest in roots of 110R and 140Ru. The abundance of *VviABF2* was the lowest in roots and leaves of 110R and 140Ru, and the highest in the roots of 41B.

The extent to which transcript abundance was modified in water-stressed plants is shown in Fig. 2.4B. Genotype significantly affected the abundance of all transcripts, except for *VviNCED1*, *VviABF1*, *VviHYD2*, *VviRCAR5*, *VviSnRK2.1* and *VviPP2C4* in the roots (Tables S2.IV and S2.V).

The abundance of *VviNCED1* was strongly increased, both in the leaves and the roots for all genotypes. In the leaves, the increase was lower for SO4 than the other genotypes. For *VviNCED2*, the abundance increased mainly in roots, especially for Grenache, Syrah and 101-14Mgt. No effect of water-deficit was observed for *VviHyd1* in roots and its transcript abundance was slightly reduced in the leaves of 140Ru and Grenache. Transcript abundance was increased for *VviHyd2* both in the leaves and the roots of most genotypes. The extent of increase was higher in the leaves of 110R and Grenache.

Generally, the abundance of *VviRCAR5* and *VviRCAR6* decreased in the leaves and the roots. The reduction was more pronounced for *VviRCAR5* in leaves of 41B, 110R, 140Ru, Syrah and Grenache and in roots of 41B, Syrah and Grenache in comparison to the other genotypes. For *VviRCAR6*, the decrease was higher in leaves and roots of 41B, Syrah and Grenache. The levels of *VviPP2C4* and *VviPP2C9* increased both in the leaves and the roots for all genotypes. The increase was the highest for *VviPP2C4* both in the leaves and the roots of 41B, Syrah and Grenache, and for *VviPP2C9* in Syrah and Grenache. The abundance of *VviSnRK2.1* transcripts was increased both in the leaves and the roots of all genotypes, and especially in Grenache. For *VviSnRK2.6*, there was a significant effect of water-deficit in leaves, but not in roots. The level of *VviABF1* and *VviABF2* transcripts was increased in leaves and roots. The increase was more pronounced for *VviABF1* in the leaves of 41B, Syrah and Grenache, and for *VviABF2*, in the leaves of 41B and Grenache and in the roots of 101-14Mgt and Grenache.

The transcript abundances of many of the genes studied were correlated with one another (Table S2.VI). *VviNCED1* was highly correlated with *VviPP2C4* in leaves and *VviABF1* in the leaves and roots. *VviPP2C4* was highly positively correlated with *VviNCED1*, *VviABF1* and *VviPP2C9* in leaves, but negatively with *VviRCAR5* and *VviRCAR6* both in the leaves and roots. The abundance of *VviRCAR5* and *VviRCAR6*, both in leaves and roots, were positively correlated with each other, and negatively correlated with *VviPP2C4* and *VviABF1* in leaves.

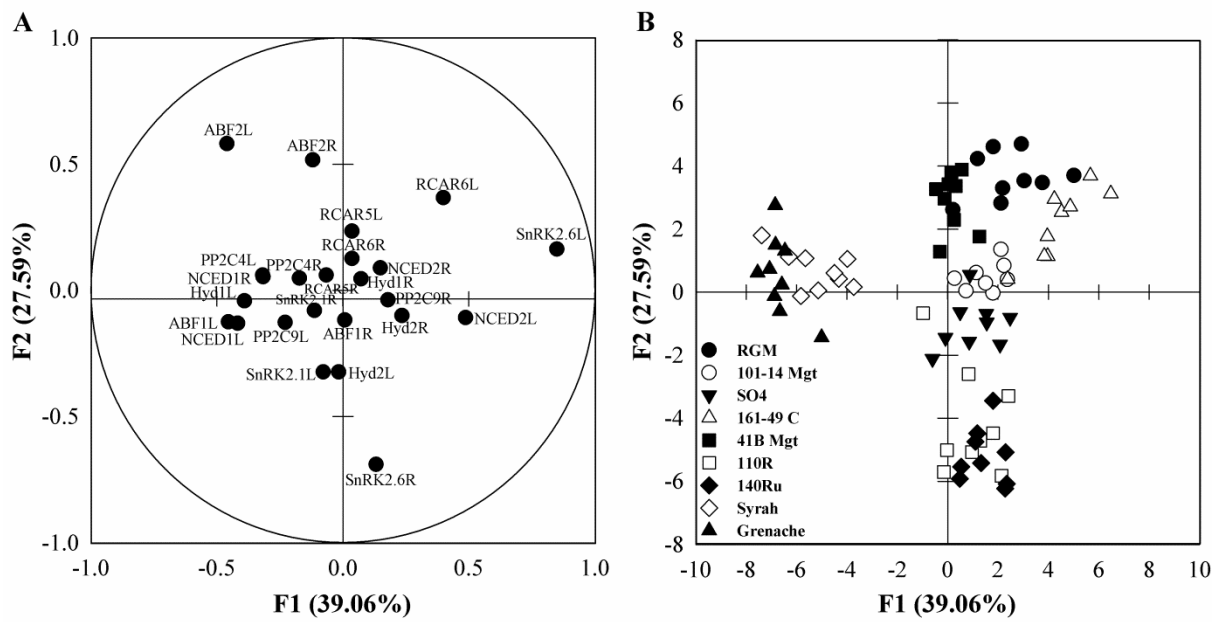


Figure 2.5. Factorial discriminant analysis of the transcript abundance for 12 genes associated with ABA 1, 3 and 4 days after withholding irrigation in nine grapevine genotypes with the genotype as qualitative sorting variable. The distribution of variables (A) and individual observations (B) on factors F1 and F2. For A, transcript abundance of each gene is presented in leaves (L) and root tips (R). For B, key to symbols as shown in Figure 2.1C.

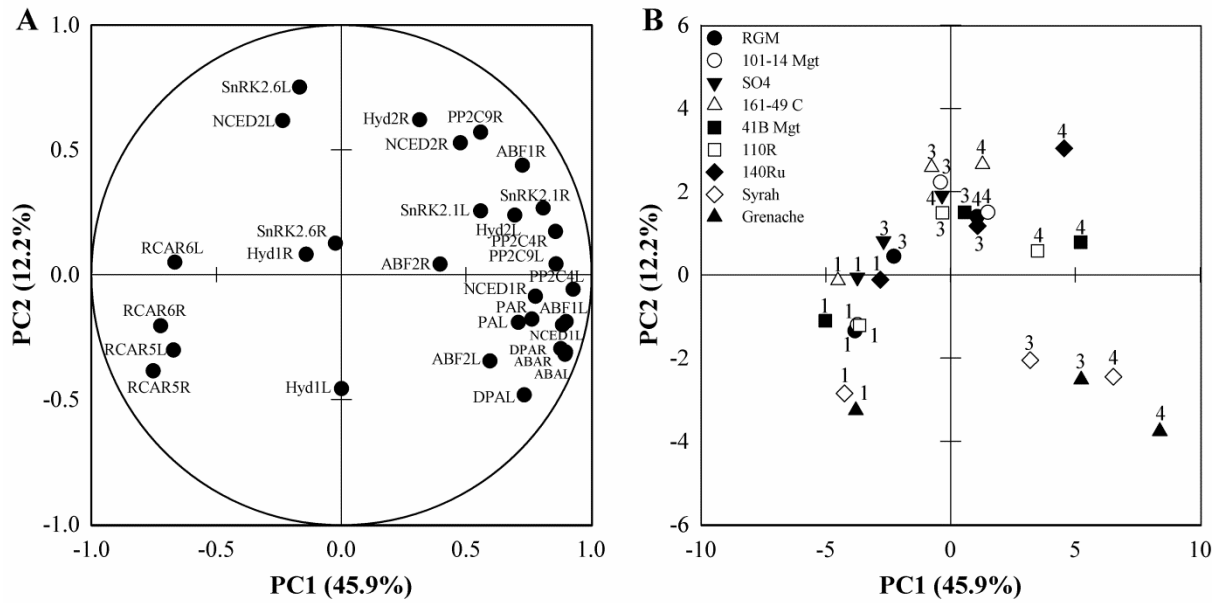


Figure 2.6. Principal component (PC) analysis of physiological and transcript abundance data of nine grapevine genotypes during a water-deficit treatment. The distribution of variables (A) and individual observations (B) on PC1 and PC2. For A, mean of expression of each gene is presented in leaves (L) and root tips (R) and mean of abscisic acid (ABA), phaseic acid (PA) and dihydroxyphaseic acid (DPA) is presented in shoot (S) and root (R) xylem sap. For B, key to symbols as shown in Figure 2.1C, numbers indicate the number of days of withheld irrigation.

III-5. Multi-factorial analyses of genotype-specific responses to water-deficit

A discriminant analysis (Fig. 2.5) was conducted on transcript abundance with genotype as qualitative sorting variable. The first two components of this analysis, F1 and F2, explained 39.1 and 27.6 % of total variability, respectively (Fig. 2.5A). F1 was positively correlated with the abundance of *VviSnRK2.6*, *VviNCED2* and *VviRCAR6*, and negatively correlated with the abundance of *VviNCED1*, *VviHyd1*, *VviABF1* and *VviABF2* in leaves (Fig. 2.5A). F2 was positively correlated with the abundance of *VviABF2* and *VviRCAR6* in leaves and *VviABF2* in roots, and negatively correlated with the abundance of *VviSnRK2.6* in roots (Fig. 2.5A). The figure showing the observations on the factor axes shows that the genotypes are well discriminated (Fig. 2.5B). Syrah and Grenache are closely clustered along to the negative side of F1, while, 110R and 140Ru are closely clustered along the negative side of F2. The other genotypes were distributed along the F2 axis with SO4 on the negative side, 41B, RGM and 161-49C on the positive side. RGM and 161-49C were also distributed positively along F1.

Finally, a principle component analysis was done on the average of all data per genotype and day of sampling. The first two components, PC1 and PC2, explained 63 % of total variability (Fig. 2.6). The abundance of transcripts of most genes, as well as all physiological variables, were highly correlated to PC1, except for *VviSnRK2.6* and *VviNCED2* in the leaves, which were highly correlated to PC2 (Fig. 2.6A). [ABA], [PA] and [DPA] cluster tightly with the expression of *VviNCED1* in both tissues, and with *VviABF1*, *VviABF2* and *VviPP2C4* in the leaves (Fig. 2.6A, Table S2.VI). The distributions of the individual observations on the PC1 and PC2 are mainly explained by the water status and genotypes respectively. Under water-stress, Syrah and Grenache (Fig. 2.6B) remained on the negative part of PC2 when the other genotypes moved to the positive part of this component. In addition water-stressed 140Ru, 110R and 41B were located in an intermediate position along PC1, between Syrah and Grenache, and the other genotypes studied.

IV- Discussion

The objective of the current study was to evaluate whether the commonly observed differences in drought adaptation of grapevine genotypes were associated with differences in ABA metabolism and/or the expression of genes in the ABA biosynthesis, catabolism and signal transduction pathways. Nine genotypes from different *Vitis* backgrounds were characterized for their short-term responses to water-deficit in terms of plant water status, ABA metabolite concentration in xylem sap and transcriptional regulation of some genes associated with ABA biosynthesis/catabolism and signal transduction pathways.

IV-1. Responses to water-deficit are common to the genotypes studied

In this study, all genotypes exhibited typical physiological responses to water-deficit. Soil water content and pre-dawn root and stem water potential decreased. Transpiration was significantly reduced, with the decrease in daily transpiration being linearly, and positively, correlated with the change in pre-dawn stem water potential. ABA accumulated under water-deficit and the range of [ABA] in stem xylem sap was similar to previous observations for grapevine (Soar *et al.*, 2006*a*; Beis and Patakas, 2010; Speirs *et al.*, 2013; Tramontini *et al.*, 2014). [ABA], [PA] and [DPA] were highly correlated, among themselves, and with pre-dawn stem water potential, confirming that the concentration of ABA and its catabolites in xylem sap are quantitatively related to plant water status (Simonneau *et al.*, 1998; Ren *et al.* 2007).

In grapevine, three putative homologues of *NCED* have been identified (Young *et al.*, 2012) and are differentially expressed across plant tissues, developmental stages and environmental conditions (Soar *et al.*, 2004; Young *et al.*, 2012; Zheng *et al.*, 2015). *VviNCED1* and *VviNCED2* are considered as the two main genes associated with ABA synthesis in response to plant water status (Soar *et al.*, 2004, 2006*b*; Speirs *et al.*, 2013). In the present work, *VviNCED1* and *VviNCED2* exhibited contrasting behaviours. *VviNCED1* transcript abundance was low in non-stressed plants when compared to *VviNCED2*, but was highly increased in water-stressed plants. *VviNCED2* was high in non-stressed plants, and was further increased by water-deficit in the roots. In water-stressed roots, both *VviNCEDs* are associated with increases in [ABA], in agreement with Speirs *et al.* (2013). The absence of any significant change in *VviNCED2* abundance in water-stressed leaves supports the findings of Soar *et al*. (2004), where *VviNCED2* expression level was shown to be more related to leaf age.

Among the different ABA catabolism pathways, the 8'-hydroxylation is considered as the predominant one (Nambara and Marion-Poll, 2005). Among the three genes isolated from the *V. vinifera* genome, *VviABA8'OH-1 (VviHyd1)* and *VviABA8'OH-2 (VviHyd2)* were selected because of their expression pattern (Speirs *et al.*, 2013). In the present study, *VviHyd1* was expressed at low levels in roots of non-stressed plants and its abundance was not affected by water-deficit (in agreement with Speirs *et al*. (2013)). The abundance of *VviHyd2* transcripts was significantly increased in both leaves and roots of water-stressed plants, but to a larger extent in leaves where it was highly correlated with [ABA], [PA] and [DPA]. Speirs *et al.* (2013) suggested that ABA catabolism in leaves could adjust gas exchanges to VPD; our data support that it also responds to soil water status.

In the present study, the increase of [ABA], [PA] and [DPA] when plant water potential decreased was more pronounced in shoot xylem sap compared with root xylem sap. The abundance of *VviNCED2* and *VviHyd1* were significantly higher in the leaves than in the roots of non-stressed plants, and the abundance of *VviHyd2* was more than two-fold greater in the leaves than in the roots of water-stressed plants. This suggests an important role for ABA biosynthesis and catabolism in leaves. In addition, [ABA], [PA] and [DPA] were determined at the end of the night period when sap flow is very low. Consequently the higher concentrations in shoot xylem sap probably result from root synthetized ABA and local metabolism in leaves (Dodd, 2005; Endo *et al*., 2008).

The ABA receptor PYR/PYL/RCAR is playing a crucial role in the fine tuning of the ABA signalling process in response to water-deficit (Zhang *et al.*, 2015). Various PYR/PYL/RCAR members have specialized functions that could be associated with differences between short- and long-term water-deficit responses (Seiler *et al.*, 2014). Among the RCARs members identified in the grapevine genome, the predominantly expressed isogenes are *VviRCAR5* and *VviRCAR6* in roots and leaves, respectively. VviPP2C4 and VviPP2C9 were identified as the main interactors with VviRCARs (Boneh *et al.*, 2012*b*). In the current study, the abundance of *VviRCAR5* and *VviRCAR6* transcripts was significantly higher in roots than in leaves of non-stressed plants and was reduced by water-deficit. *VviPP2C4* and *VviPP2C9* were expressed in leaves and roots of non-stressed plants for all genotypes, although the abundance of *VviPP2C4* transcripts was at least an order of magnitude greater in both tissues. The abundance of both transcripts was increased in water-stressed plants. The expression pattern of these genes is consistent with studies across multiple species (Xue *et al.*, 2008; Boneh *et al.*, 2012*b*; Sun *et al.*, 2011; Chan, 2012; Seiler *et al.*, 2014; Dalal and Inupakutika, 2014).

SnRK2 proteins belong to a family of plant-specific serine/threonine kinases that are involved in abiotic and ABA responses (Dalal and Chinnusamy, 2015). ABA-mediated inhibition of the negatively acting PP2Cs leads to activation of a subfamily of SnRK2 kinases (SnRK2.2, SnRK2.3 and SnRK2.6). From the SnRK2 genes identified in the grapevine genome, VviSnRK2.1 appeared to be the main component interacting with SnRK2 targets, including VviABF1 and VviABF2, and no interactions could be detected for VviSnRK2.6 (Boneh *et al.*, 2012*a*). Both *VviSnRK2* transcripts were more highly expressed in the leaves than in the roots of non-stressed plants in the present study. In water-stressed plants, the abundance of *VviSnRK2.1* was increased in leaves and roots, while *VviSnRK2.6* was not significantly modified in the roots, supporting that the variability of responses observed among genes in Arabidopsis (Chan, 2012).

VviABF1 and VviABF2 are orthologs of AtAREB1/ABF2 (Boneh *et al*., 2012*a*). This TF is one of the master elements that regulate ABRE-dependant signalling involved in water-deficit tolerance in vegetative tissues (Yoshida *et al.*, 2015). In the present study, the abundance of both *VviABFs* was increased by water-deficit, but not with organ specificity as reported previously for a dehydration stress (Boneh *et al.*, 2012*a*).

The strong correlations observed for the expression of *VviPP2C4* and *VviABF1* with the expression of most other genes studied here suggest that these two genes could play a central role in the ABA signalling in response to water-deficit in grapevine. Indeed it was shown for Arabidopsis, that plants mutated for AREB/ABF TFs or PP2C genes displayed modifications of sensitivity to ABA and of tolerance to water-deficit (Leung *et al*., 1997; Fujita *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2015, Yoshida *et al.*, 2015).

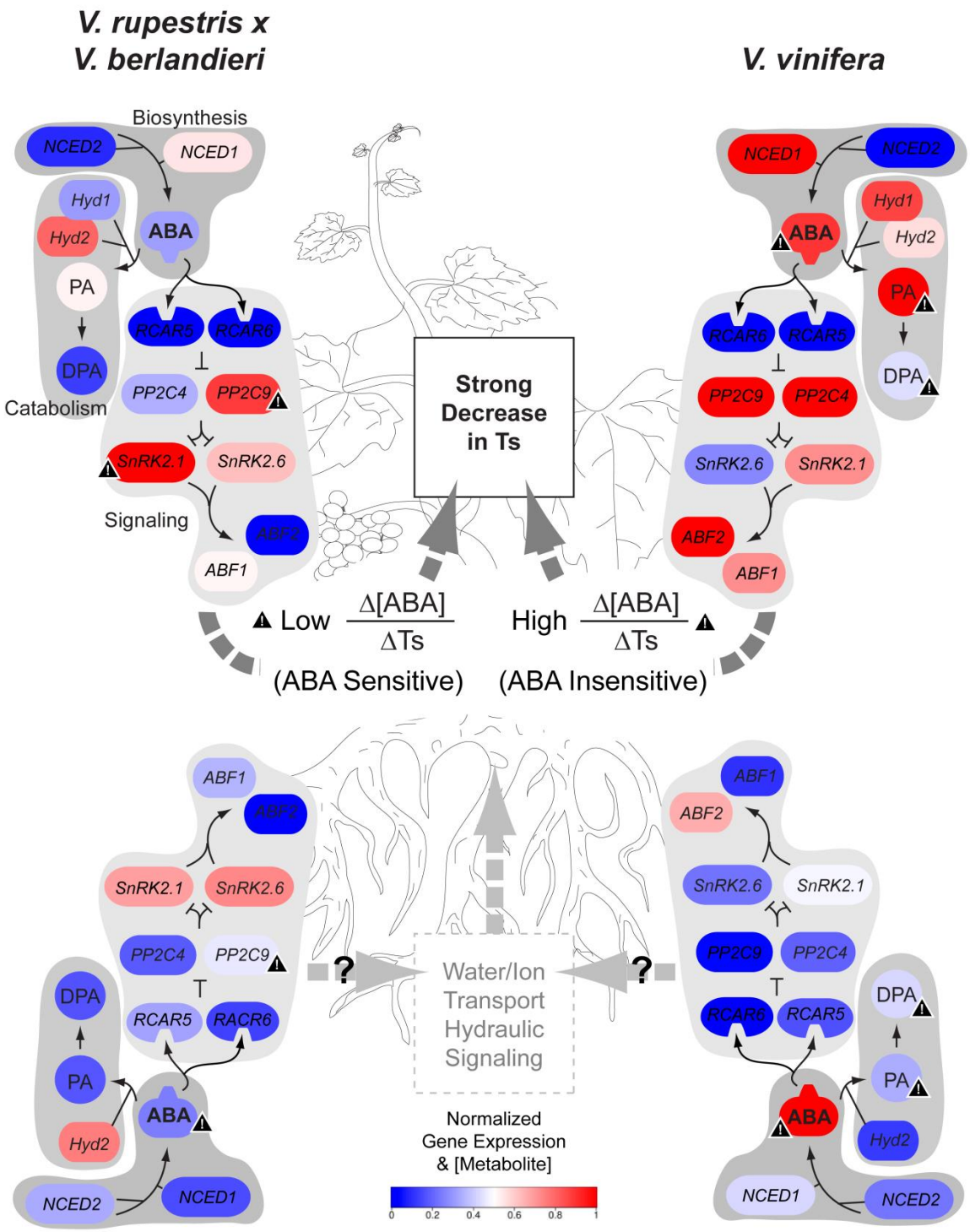


Figure 2.7. Summarized view of ABA-related gene expression, metabolite concentration and transpiration sensitivity to ABA after 4 days of withholding irrigation for the genotypes defined in literature as drought tolerant i.e. *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids (left) and *V. vinifera* (right). Colours indicate genes expression values and ABA-related metabolite concentration for 140Ru and Grenache scaled between the lowest and the highest values, 4 days after withholding irrigation for all genotypes and tissues. Warning symbols indicate the intra-group variability when it is significant between 140Ru and 110R on one side and between Grenache and Syrah on the other side, according to Fig. 2.2, 2.3A and Tables S2.IV-2.V.

IV-2. Genotype-specific responses are associated with their genetic background

The genotypes studied here significantly affected most physiological parameters and gene expression profiles, both in non-stressed and water-stressed plants. Grapevine is considered drought tolerant with an intraspecific and interspecific phenotypic diversity reported for water-deficit responses (Chaves *et al.*, 2010; Serra *et al.*, 2014, Keller, 2015) which is supported by this study.

Factorial discriminant analysis of the transcript abundance of 12 genes related to ABA in non-stressed and water-stressed plants allows a clear separation of Syrah and Grenache (the *V. vinifera* varieties), from 140Ru and 110R (the *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids), and from the other genotypes. The abundance of *VviNCED2, VviSnRK2.6, VviABF1* and *2* in leaves were the most discriminant variables separating *V. vinifera* from the other genotypes, while *VviABF2* in leaves, *VviABF2* and *VviSnRK2.6* in roots were the most discriminant variables along F2, separating *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids from the other genotypes. The abundance of *VviNCED2* in leaves and *VviSnRK2.6* in roots was not affected by the water-deficit, indicating a constitutive differential expression of these genes between genotypes. OPEN STOMATA 1 (OST1/At4g33950), the Arabidopsis ortholog of VviSnRK2.6, is involved in the regulation of anion and potassium channels, and aquaporin activity in guard cells (Acharya *et al.*, 2013; Grondin *et al*., 2015). Its function in roots has not been investigated, but its role in guard cells may suggest that it participates in the control of ion and/or water transport.

Under the water-deficit treatment applied in the current study, the *V. vinifera* genotypes displayed more pronounced transcriptional changes than the other genotypes, followed by the *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids and 41B (a *V. berlandieri* x *V. vinifera* hybrid). These changes are summarized in Fig. 2.7. The response of *V. vinifera* genotypes to water-deficit was mainly associated with changes in abundance of *VviHyd, VviABF1* and *VviABF2* in leaves and *VviNCED1* in leaves and roots. For *V. berlandieri* x *V. rupestris* hybrids and 41B, the intermediate response was associated with the abundance of *VviNCED2* and *VviSnRK2.6* in leaves and, *VviNCED2, VviHyd2, VviPP2C9,* and *VviABF1* in roots. Own rooted *V. vinifera* are considered to better tolerate drought than when grafted on American hybrids (Keller *et al.*, 2012). This high drought tolerance could be associated with the ability to regulate the expression of genes that control ABA responses in leaves observed in the present study. In *V. berlandieri* x *V rupestris* hybrids and 41B, which are characterized as drought tolerant rootstocks (Fregoni *et al.*, 1977; Serra *et al.*, 2014), the response appears to have a relatively stronger root component. The ABA receptors, *VviRCAR5* and *VviRCAR6*, were not identified as key component of the variability of water-deficit responses between the genotypes. The responses of ABA concentration and transpiration to plant water potential were also more pronounced for some of these tolerant genotypes such as Grenache, 140Ru and 41B.

Although the genotypes could be grouped according to their genetic background, some within-groups variability was observed (Fig. 2.7). For example, among *V. vinifera* varieties, Grenache was characterized by the highest [ABA] in stem xylem sap, significantly higher expression of *VviNCED1* in leaves, and significantly steeper slopes for the relationships between [ABA] and [PA] with plant water status. The higher ratio of delta [ABA] to delta transpiration in Grenache confirms its lower sensitivity to ABA (Hopper *et al*., 2014). Grenache is traditionally referred to as a near-isohydric variety, reducing stomatal conductance and leaf transpiration more rapidly in order to avoid a drop in leaf water potential (Tardieu and Simonneau, 1998; Schultz, 2003; Soar *et al.*, 2006*b*; Chaves *et al.*, 2010). This link between a lower sensitivity to ABA and higher sensitivity to VPD has been suggested in other studies for Grenache (Soar *et al*., 2006*b*). Among the *V. berlandieri* x V. *rupestris* hybrids, both considered as drought tolerant, 140Ru did not differ from the bulk of genotypes for ABA accumulation capacity, but its transpiration was more reduced for a given [ABA] indicating a higher sensitivity to ABA. On the contrary, 110R displayed a lower accumulation capacity of ABA and its sensitivity to ABA was not different from the bulk of genotypes.

To conclude, this study shows that the ABA responses to water-deficit are well-conserved between model species and *Vitis* genotypes. However several aspects of the ABA metabolism and signalling pathways allow the segregation of the nine genotypes studied according to their genetic background and their drought tolerance level. An absolute relationship between ABA and known drought tolerance in the field was not established, although several studies demonstrated that improving ABA production and homeostasis lead to improved drought tolerance under long-term stress conditions or at adult stages in several species (Seiler *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2015). In grapevine, drought tolerance is a highly complex trait which could be acquired through different mechanisms (Serra *et al*., 2014). The fact that many genes involved in ABA metabolism and the signal transduction pathway were located in the confidence interval of QTLs controlling drought responses in grapevine rootstocks (Marguerit *et al.*, 2012) support the conclusion that ABA contributes to the genetic control of water-deficit responses in grapevine.

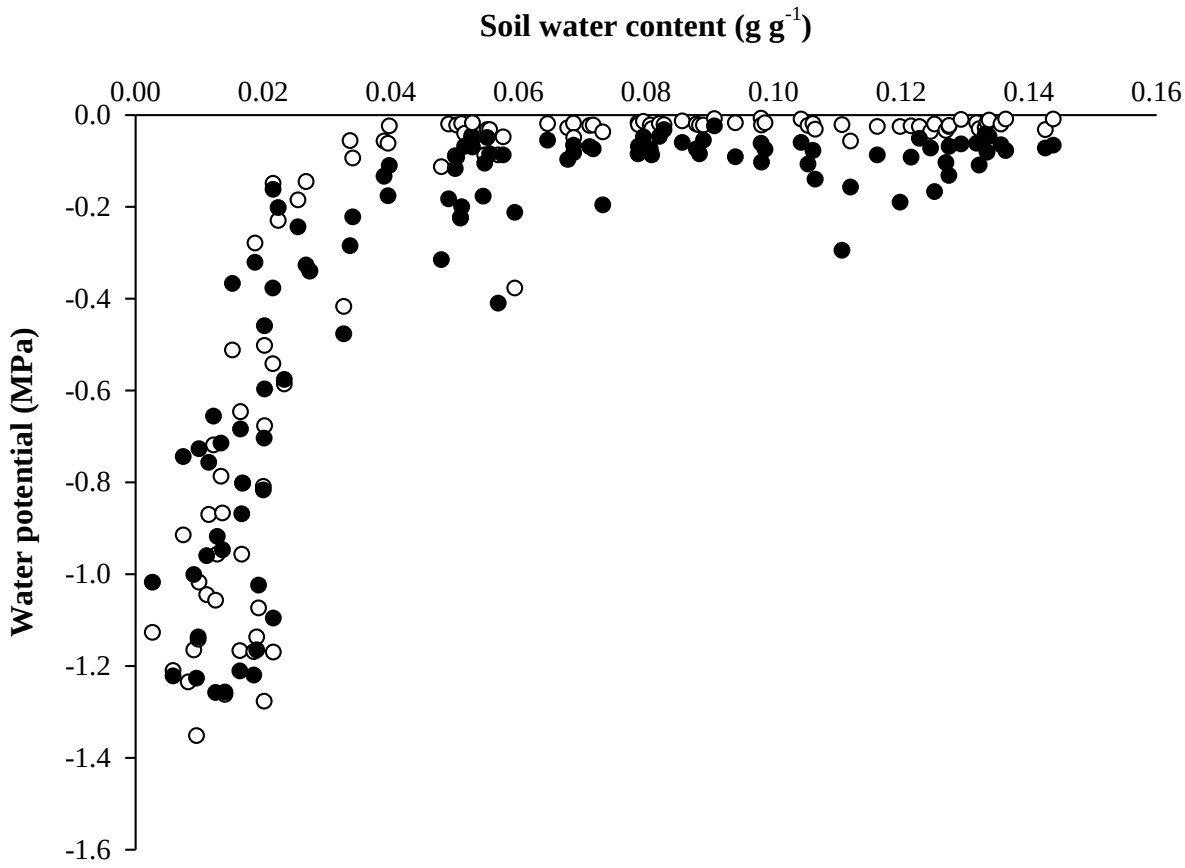
Funding:

This work was supported by “Institut National de la Recherche Agronomique” and “Aquitaine Region” in the frame of the Metaprogramme ACCAF.

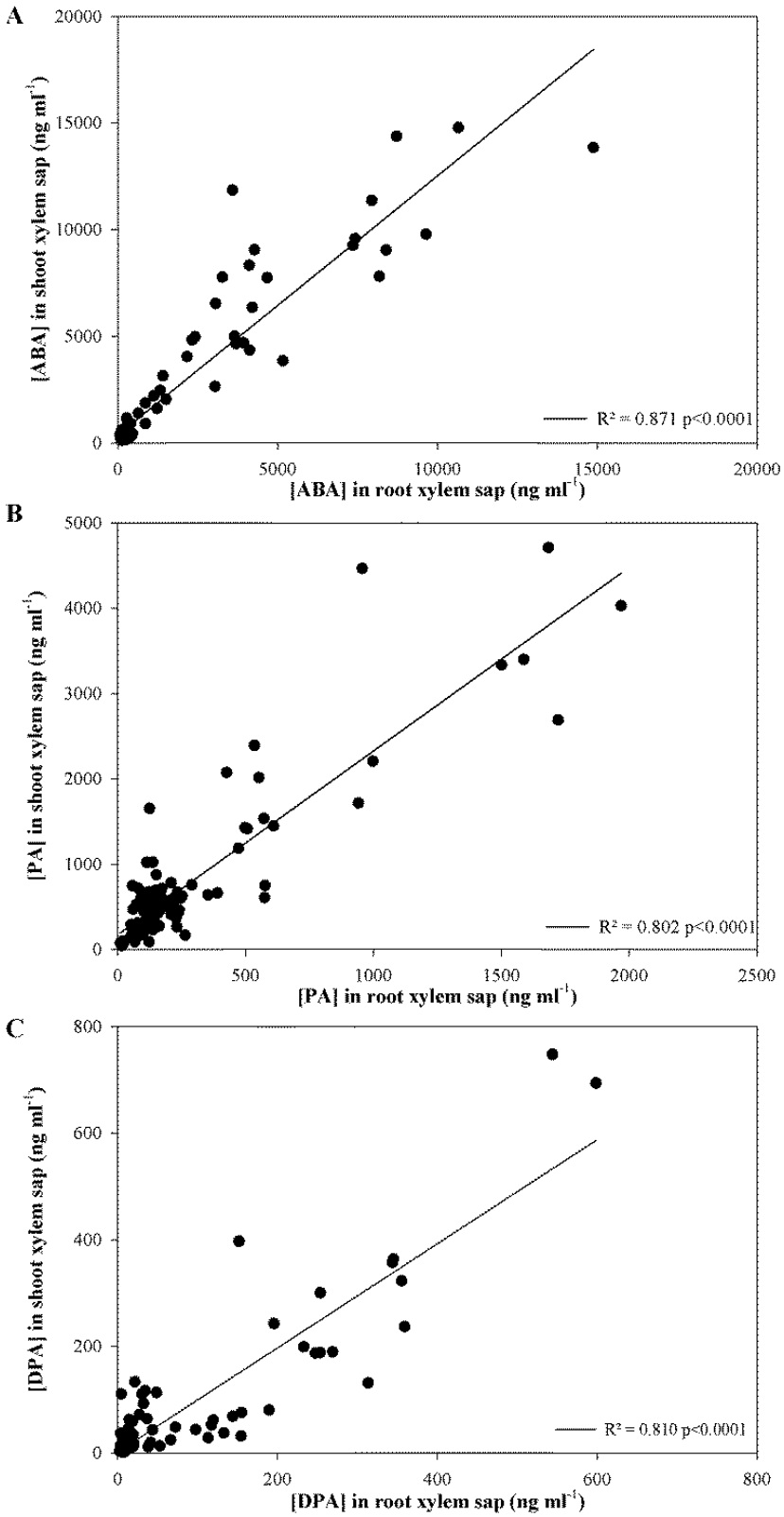
Acknowledgments:

The authors thank Annette Boettcher for the ABA analyses, and Bernard Douens and Jean-Pierre Petit for plant maintenance. The authors are grateful to Prof. GC Cramer and Dr E Lebon for their helpful and critical reading of the manuscript.

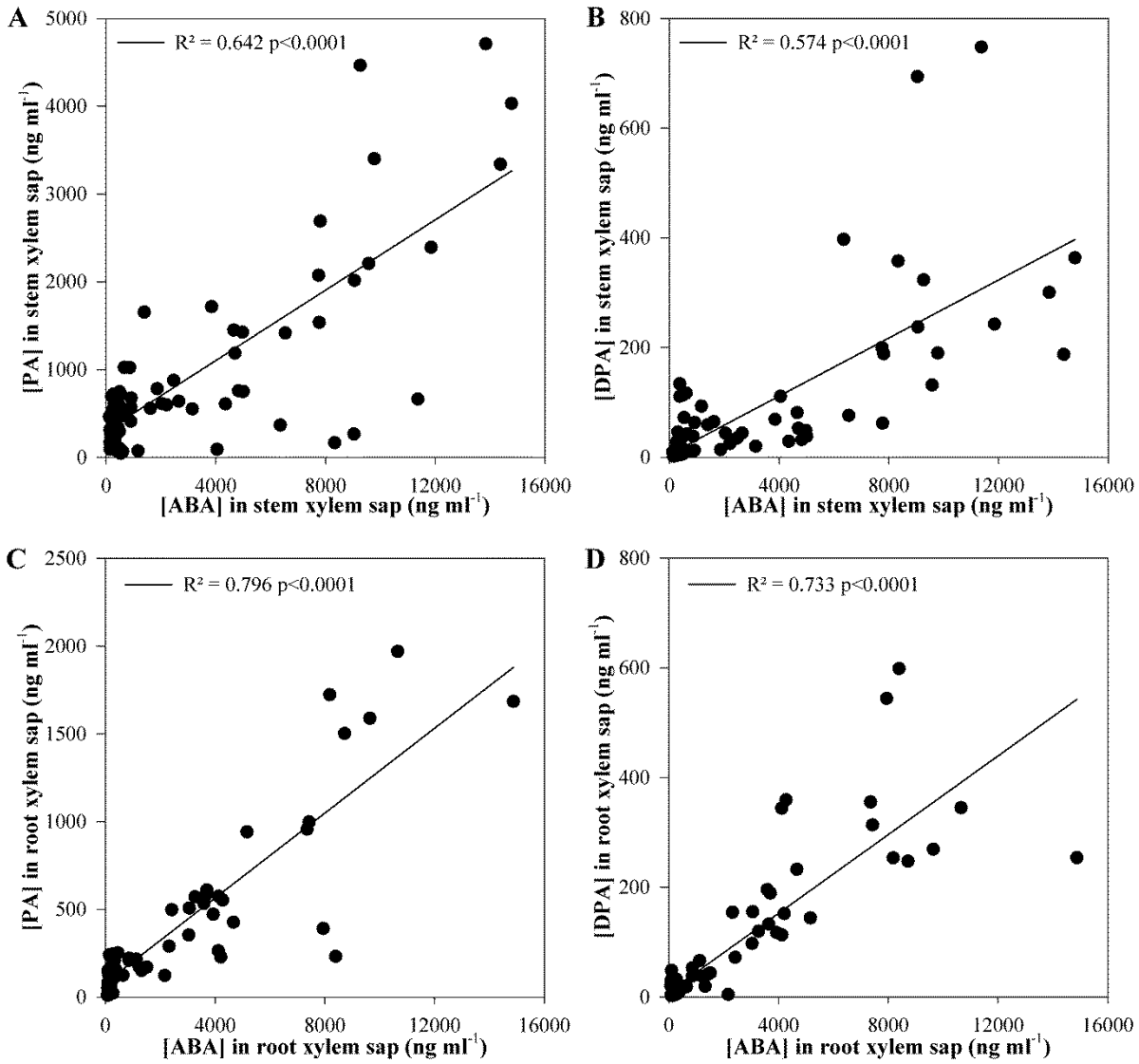
V- Supplementary Data



Supplementary Fig. S2.1: Relation between soil water content and root (black circle) and shoot (white circle) water potential (n = 214).



Supplementary Fig. S2.2: Relation between abscisic acid (ABA) (A), phaseic acid (PA) (B) and dihydrophaseic (DPA) (C) content in root and stem xylem sap. P-values and R^2 are presented for each regression (n = 101).



Supplementary Fig. S2.3: Relation between phaseic acid (PA) (A & C) or dihydrophaseic (DPA) (B & D) with abscisic acid (ABA) content in stem (A & B) and in root (C & D) xylem sap. p-values and R^2 are presented for each regression (n = 101).

Supplementary Table S2.I. Biomass and descriptive data for nine grapevine genotypes. Values represent mean ± standard deviation (n = 24, except for soil water content on day 1 and 4, n = 6). Values among genotypes with the same letter are not statistical different (one way ANOVA, p-value is presented in bottom line).

	Leaves (g)				Stem (g)				Trunk (g)				Roots (g)				Total biomass (g)			
	mean		sd		mean		sd		mean		sd		mean		sd		mean		sd	
RGM	4.53	±	0.65	e	5.85	±	1.23	abcd	5.59	±	0.57	de	10.37	±	4.29	abc	26.35	±	5.22	bc
101-14 Mgt	4.68	±	0.49	de	6.73	±	1.57	a	4.85	±	0.88	e	9.37	±	3.16	abc	25.65	±	4.01	bc
SO4	4.21	±	0.39	e	5.11	±	0.69	de	7.00	±	1.62	a	11.59	±	3.48	ab	27.94	±	4.07	ab
161-49 C	4.57	±	0.44	e	5.37	±	1.43	cd	6.73	±	0.69	ab	9.68	±	3.07	abc	26.35	±	3.61	bc
41B Mgt	5.79	±	0.42	a	5.02	±	0.97	de	6.03	±	0.92	bcd	8.32	±	3.61	c	25.17	±	4.20	bc
110R	5.23	±	0.45	bc	5.67	±	1.19	bcd	5.97	±	1.26	bcd	7.97	±	4.12	c	24.85	±	5.07	bc
140Ru	5.06	±	0.54	cd	4.14	±	0.69	e	5.80	±	1.06	cd	8.46	±	3.09	bc	23.47	±	3.53	c
Syrah	5.26	±	0.57	bc	6.60	±	1.25	ab	6.67	±	1.28	abc	9.18	±	4.81	bc	27.73	±	5.68	ab
Grenache	5.59	±	0.91	ab	6.28	±	1.46	abc	6.07	±	1.29	bcd	12.43	±	4.30	a	30.39	±	6.21	a
ANOVA p-value	< 0.0001				< 0.0001				< 0.0001				0.0003				< 0.0001			

	Leaf area (cm^2)				Leaf area/Root biomass (cm^2 g^{-1})				Leaves/root biomass (g g^{-1})				SWC day 1 (g g^{-1})				SWC day 4 (g g^{-1})			
	mean		sd		mean		sd		mean		sd		mean		sd		mean		sd	
RGM	443.0	±	50.14	a	49.28	±	18.00	abc	0.50	±	0.20	bcd	0.13	±	0.009	ab	0.028	±	0.023	a
101-14 Mgt	414.4	±	34.64	bc	50.38	±	20.68	abc	0.56	±	0.23	bcd	0.12	±	0.009	abc	0.013	±	0.009	ab
SO4	404.5	±	33.54	bc	37.89	±	11.10	c	0.39	±	0.12	d	0.13	±	0.009	a	0.019	±	0.002	ab
161-49 C	391.8	±	27.70	c	44.43	±	14.01	bc	0.51	±	0.15	bcd	0.13	±	0.008	ab	0.021	±	0.008	ab
41B Mgt	417.5	±	24.35	bc	58.04	±	20.94	ab	0.80	±	0.28	a	0.10	±	0.009	d	0.011	±	0.001	b
110R	413.5	±	26.90	bc	63.39	±	27.56	a	0.80	±	0.34	a	0.12	±	0.009	abc	0.011	±	0.004	b
140Ru	408.8	±	27.43	bc	55.86	±	23.80	ab	0.68	±	0.26	abc	0.11	±	0.007	cd	0.007	±	0.003	b
Syrah	423.0	±	21.79	ab	56.24	±	22.82	ab	0.69	±	0.27	ab	0.11	±	0.007	bcd	0.013	±	0.003	ab
Grenache	414.1	±	28.05	bc	38.16	±	15.92	c	0.48	±	0.13	cd	0.11	±	0.010	cd	0.015	±	0.004	ab
ANOVA p-value	< 0.0001				< 0.0001				< 0.0001				< 0.0001				0.011			

Supplementary Table S2.II. Primer pair sequences used in this study. Accessions number from Gramene : http://www.gramene.org/

	Forward primer (5' to 3')	Reverse primer (5' to 3')	Gene ID	Closest *Arabidopsis thaliana* ortholog
VviNCED1	TTCCCTCACGAGTTCCCTATG	TCCTCTGCAATCTGACACCAAG	VIT_19s0093g00550	AtNCED3
VviNCED2	AGTTCCATACGGGTTTCATGGG	CCATTTTCCAAATCCAGGGTGT	VIT_10s0003g03750	AtNCED5
VviHyd1	CTTCCCCTGACTTCGTTTT	CGTACAAAATCAAAGTAGGGATA	VIT_18s0001g10500	AtABA 8' hydroxylase 4
VviHyd2	TGGGCACACAGAATGGTATT	TGATTGGTGGCACTGAGAG	VIT_02s0087g00710	AtABA 8' hydroxylase 1
VviRCAR5	GTTTTTGTCGACACCATCGTT	TCATGACGATGACCTCTTGC	VIT_08s0058g00470	AtPYL4
VviRCAR6	CGGGTAACACGAAGGAGGA	GGGGTGCAATAATCTAAAAGAG	VIT_13s0067g01940	AtPYL4
VviPP2C4	TGGGCTTTGGGATGTTATGT	TGTGCAGGAGTCTCATCAGC	VIT_11s0016g03180	AtABI1
VviPP2C9	TTAAAGCCCTTCGTGAGCTG	GACACCACGTCCCACAGAC	VIT_06s0004g05460	AtPP2C3
VviSnRK2.1	TTTTTGTGGCAAACCCAGAT	CAGCTTCCTCCATCCATCAT	VIT_18s0001g06310	AtSnRK2C/AtSnRK2.8
VviSnRK2.6	CACCAACCCACCTTGCTATT	AAACGTGCCTCATCCTCACT	VIT_03s0063g01080	AtOST1/AtSnRK2.6
VviABF1	TGCCAATCAGTCATCAGA	CCTTCCTCTTATACCTCCAT	VIT_18s0001g10450	AtABRE-binding factor 2/AtbZIP36
VviABF2	GGCACCCAGGCTAGTTAA	GCAGAGTACACGCTAGATTG	VIT_03s0063g00310	AtABRE-binding factor 3/AtbZIP37
VviActin	CTTGCATCCCTCAGCACCTT	TCCTGTGGACAATGGATGGA	VIT_04s0044g00580	AtActin-7
VviEF1γ	CAAGAGAAACAATCCCTAGCTG	TCAATCTGTCTAGGAAAGGAAG	VIT_12s0035g01130	AtEF-1-gamma 1
VviGAPDH	CCACAGACTTCATCGGTGACA	TTCTCGTTGAGGGCTATTCCA	VIT_17s0000g10430	AtGAPC2

Supplementary Table S2.III. The transcript abundance of 12 ABA-related genes in the roots and leaves of nine grapevine genotypes on day 1. p-values from a two-way ANOVA (n = 27) are presented in first block of the table for each gene. Genotypes, tissues and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		NCED1	NCED2	ABF1	ABF2	Hyd1	Hyd2	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6	PP2C4	PP2C9
Genotypes		0.441	0.001	0.000	< 0.0001	0.001	0.010	0.000	0.003	< 0.0001	< 0.0001	0.017	0.016
Tissues		0.017	< 0.0001	0.611	0.025	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.048
Interaction		0.108	0.001	0.130	< 0.0001	0.000	0.894	0.339	0.008	0.000	0.001	0.369	0.016
Genotypes effect	RGM	0.014 a	0.218 bc	0.165 c	0.702 ab	0.245 bc	0.325 ab	0.201 bc	0.049 b	0.149 d	0.265 bcd	0.130 b	0.009 b
	101-14 Mgt	0.012 a	0.278 abc	0.214 bc	0.299 c	0.408 abc	0.328 ab	0.177 c	0.042 b	0.213 bcd	0.240 bccde	0.158 ab	0.004 b
	SO4	0.013 a	0.367 ab	0.231 bc	0.366 bc	0.115 c	0.651 a	0.218 bc	0.114 ab	0.344 ab	0.271 bc	0.162 ab	0.009 ab
	161-49 C	0.009 a	0.391 a	0.195 bc	0.413 bc	0.357 bc	0.397 ab	0.178 c	0.117 ab	0.274 bcd	0.269 bc	0.164 ab	0.010 ab
	41B Mgt	0.011 a	0.299 abc	0.186 c	1.039 a	0.143 bc	0.486 ab	0.468 a	0.176 a	0.311 abc	0.165 cde	0.095 b	0.030 a
	110R	0.027 a	0.194 c	0.350 ab	0.081 c	0.255 bc	0.258 b	0.226 bc	0.056 b	0.185 cd	0.316 ab	0.207 ab	0.009 b
	140Ru	0.020 a	0.314 abc	0.415 a	0.078 c	0.605 ab	0.508 ab	0.164 c	0.027 b	0.420 a	0.403 a	0.247 a	0.015 ab
	Syrah	0.032 a	0.215 c	0.237 bc	0.698 b	0.308 bc	0.284 ab	0.384 ab	0.134 ab	0.285 abcd	0.139 d	0.131 b	0.003 b
	Grenache	0.013 a	0.192 c	0.163 c	0.404 bc	0.875 a	0.139 b	0.198 bc	0.071 ab	0.207 bcd	0.140 de	0.166 ab	0.003 b
Tissues effects	Leaves	0.010 b	0.377 a	0.232 a	0.392 b	0.725 a	0.237 b	0.135 b	0.016 b	0.318 a	0.295 a	0.208 a	0.007 b
	Roots	0.023 a	0.171 bc	0.247 a	0.514 a	0.011 bc	0.512 a	0.357 a	0.159 a	0.212 b	0.196 b	0.117 b	0.014 a

Interaction	Genotypes	NCED1	NCED2	ABF1	ABF2	Hyd1	Hyd2	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6	PP2C4	PP2C9
Leaves	RGM	0.010 a	0.208 cde	0.181 bcd	0.747 bc	0.490 bc	0.162 a	0.106 c	0.022 de	0.157 cd	0.341 abcd	0.157 abcd	0.005 b
	101-14 Mgt	0.010 a	0.277 cde	0.184 abcd	0.306 bcd	0.816 bc	0.126 a	0.082 c	0.015 e	0.303 bcd	0.306 ancdef	0.174 abcd	0.002 b
	SO4	0.021 a	0.560 ab	0.264 abcd	0.422 bcd	0.231 c	0.612 a	0.071 c	0.015 e	0.416 ab	0.332 abcde	0.215 abcd	0.012 b
	161-49 C	0.009 a	0.604 a	0.244 abcd	0.400 bcd	0.714 bc	0.218 a	0.131 c	0.040 cde	0.355 bc	0.397 ab	0.241 abcd	0.010 b
	41B Mgt	0.003 a	0.437 abc	0.123 d	0.372 bcd	0.190 c	0.364 a	0.377 abc	0.020 de	0.267 bcd	0.305 abcdef	0.108 abcd	0.006 b
	110R	0.005 a	0.235 cde	0.266 abcd	0.058 d	0.509 bc	0.106 a	0.097 c	0.005 e	0.157 cd	0.300 abcdef	0.255 abc	0.004 b
	140Ru	0.014 a	0.425 abc	0.384 abc	0.083 d	1.207 ab	0.336 a	0.079 c	0.006 e	0.615 a	0.357 abc	0.288 a	0.014 b
	Syrah	0.008 a	0.323 bcd	0.226 abcd	0.586 bcd	0.616 bc	0.117 a	0.158 c	0.011 e	0.291 bcd	0.165 cdefg	0.165 abcd	0.004 b
	Grenache	0.014 a	0.327 bcd	0.217 abcd	0.557 bcd	1.749 a	0.097 a	0.117 c	0.008 e	0.306 bcd	0.150 defg	0.268 ab	0.005 b
Roots	RGM	0.018 a	0.228 cde	0.149 cd	0.657 bc	0.001 c	0.487 a	0.295 abc	0.076 cde	0.140 cd	0.189 cdefg	0.103 bcd	0.013 b
	101-14 Mgt	0.015 a	0.278 cde	0.244 abcd	0.292 bcd	0.000 c	0.530 a	0.272 abc	0.068 cde	0.123 cd	0.174 cdefg	0.143 abcd	0.006 b
	SO4	0.005 a	0.174 de	0.198 abcd	0.309 bcd	0.000 c	0.690 a	0.365 abc	0.212 abc	0.271 bcd	0.211 bcdefg	0.108 abcd	0.007 b
	161-49 C	0.009 a	0.178 de	0.146 cd	0.425 bcd	0.000 c	0.576 a	0.224 c	0.195 abcd	0.193 bcd	0.141 defg	0.086 bcd	0.010 b
	41B Mgt	0.018 a	0.161 de	0.248 abcd	1.707 a	0.097 c	0.609 a	0.559 ab	0.332 a	0.356 bc	0.024 g	0.081 cd	0.055 a
	110R	0.050 a	0.153 de	0.435 ab	0.104 d	0.001 c	0.410 a	0.355 abc	0.107 bcde	0.213 bcd	0.332 abcde	0.159 abcd	0.013 b
	140Ru	0.026 a	0.203 cde	0.446 a	0.073 d	0.003 c	0.679 a	0.249 bc	0.047 cde	0.226 bcd	0.448 a	0.207 abcd	0.016 b
	Syrah	0.057 a	0.108 de	0.247 abcd	0.811 b	0.000 c	0.450 a	0.610 a	0.257 ab	0.280 bcd	0.114 fg	0.096 bcd	0.003 b
	Grenache	0.013 a	0.056 e	0.108 d	0.252 cd	0.001 c	0.181 a	0.280 abc	0.135 bcde	0.109 d	0.131 efg	0.064 d	0.001 b

Supplementary Table S2.IV. The transcript abundance of 12 ABA-related genes in the leaves of nine grapevine genotypes before (day 1) and after (day 4) a drought treatment. p-values from a two-way ANOVA (n = 27) are presented in first block of the table for each gene. Genotype, day of sampling and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		NCED1	NCED2	ABF1	ABF2	Hyd1	Hyd2	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6	PP2C4	PP2C9
Genotypes		0.000	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.002	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.002	0.001
Day		< 0.0001	0.461	< 0.0001	< 0.0001	0.014	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.000	< 0.0001	< 0.0001
Interaction		0.000	0.002	< 0.0001	< 0.0001	0.002	0.000	< 0.0001	0.074	0.113	0.002	0.001	0.002
Genotypes effect	RGM	0.238 b	0.343 cd	0.394 cd	1.436 a	0.670 bc	0.511 ab	0.059 b	0.013 b	0.278 d	0.413 a	0.515 bc	0.027 b
	101-14 Mgt	0.210 b	0.344 cd	0.491 cd	0.438 de	0.644 bc	0.190 b	0.044 b	0.009 b	0.377 bcd	0.308 b	0.423 c	0.018 b
	SO4	0.046 b	0.537 ab	0.307 d	0.536 d	0.284 bc	0.619 ab	0.044 b	0.011 b	0.592 abc	0.315 b	0.375 c	0.023 b
	161-49 C	0.234 b	0.612 a	0.586 bcd	0.640 cd	0.671 bc	0.526 ab	0.079 b	0.027 a	0.635 ab	0.431 a	0.599 abc	0.097 ab
	41B Mgt	0.383 ab	0.351 cd	0.704 bcd	0.883 bc	0.171 c	0.495 ab	0.192 a	0.011 b	0.331 cd	0.370 ab	1.110 ab	0.077 ab
	110R	0.735 ab	0.311 cd	0.928 bcd	0.114 e	0.535 bc	1.034 a	0.051 b	0.003 b	0.252 d	0.320 b	0.761 abc	0.048 ab
	140Ru	0.613 ab	0.430 bc	1.056 abc	0.149 e	0.734 b	0.981 a	0.041 b	0.004 b	0.838 a	0.341 b	0.629 abc	0.131 a
	Syrah	1.070 a	0.288 cd	1.628 a	1.160 ab	0.635 bc	0.527 ab	0.080 b	0.006 b	0.329 cd	0.186 c	0.948 abc	0.094 ab
	Grenache	1.079 a	0.272 d	1.246 ab	1.352 a	1.240 a	0.664 ab	0.060 b	0.004 b	0.565 abc	0.162 c	1.187 a	0.142 a
Day effects	Day 1	0.010 b	0.377 a	0.232 b	0.392 b	0.725 a	0.237 b	0.135 a	0.016 a	0.318 b	0.295 b	0.208 b	0.007 b
	Day 4	1.013 a	0.397 a	1.399 a	1.098 a	0.516 b	0.995 a	0.009 b	0.003 b	0.614 a	0.338 a	1.247 a	0.139 a

Interaction	Category	NCED1	NCED2	ABF1	ABF2	Hyd1	Hyd2	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6	PP2C4	PP2C9
Day 1	RGM	0.010 d	0.208 e	0.181 f	0.747 de	0.490 bc	0.162 d	0.106 bcd	0.022 b	0.157 d	0.341 bc	0.157 d	0.005 c
	101-14 Mgt	0.010 d	0.277 cde	0.184 ef	0.306 defg	0.816 bc	0.126 d	0.082 bcdef	0.015 bcd	0.303 d	0.306 cd	0.174 d	0.002 c
	SO4	0.021 d	0.560 ab	0.264 ef	0.422 defg	0.231 c	0.612 cd	0.071 bcdef	0.015 bcd	0.416 bcd	0.332 bc	0.215 d	0.012 c
	161-49 C	0.009 d	0.604 a	0.244 ef	0.400 defg	0.714 bc	0.218 d	0.131 b	0.040 a	0.355 cd	0.397 abc	0.241 cd	0.010 c
	41B Mgt	0.003 d	0.437 abcde	0.123 f	0.372 defg	0.190 c	0.364 cd	0.377 a	0.020 bc	0.267 d	0.305 cd	0.108 d	0.006 c
	110R	0.005 d	0.235 e	0.266 ef	0.058 g	0.509 bc	0.106 d	0.097 bcde	0.005 bcd	0.157 d	0.300 cd	0.255 cd	0.004 c
	140Ru	0.014 d	0.425 abcde	0.384 ef	0.083 g	1.207 ab	0.336 cd	0.079 bcdef	0.006 bcd	0.615 abcd	0.357 bc	0.288 cd	0.014 c
	Syrah	0.008 d	0.323 bcde	0.226 ef	0.586 defg	0.616 bc	0.117 d	0.158 b	0.011 bcd	0.291 d	0.165 e	0.165 d	0.004 c
	Grenache	0.014 d	0.327 bcde	0.217 ef	0.557 defg	1.749 a	0.097 d	0.117 bc	0.008 bcd	0.306 d	0.150 e	0.268 cd	0.005 c
Day 4	RGM	0.465 bcd	0.477 abcd	0.607 def	2.125 a	0.849 bc	0.860 bcd	0.013 ef	0.004 cd	0.399 bcd	0.485 a	0.873 bcd	0.049 bc
	101-14 Mgt	0.410 bcd	0.410 abcde	0.798 cdef	0.570 defg	0.471 bc	0.254 d	0.005 ef	0.002 d	0.451 bcd	0.310 cd	0.672 cd	0.035 bc
	SO4	0.072 cd	0.513 abc	0.350 ef	0.650 def	0.337 c	0.626 cd	0.016 def	0.006 bcd	0.769 abc	0.298 cd	0.534 cd	0.035 bc
	161-49 C	0.459 bcd	0.620 a	0.929 cdef	0.879 cd	0.628 bc	0.835 bcd	0.026 cdef	0.014 bcd	0.914 a	0.465 a	0.958 bcd	0.183 ab
	41B Mgt	0.763 bcd	0.266 de	1.285 bcde	1.394 bc	0.151 c	0.627 cd	0.007 ef	0.001 d	0.395 bcd	0.435 ab	2.112 a	0.149 abc
	110R	1.464 ab	0.387 abcde	1.591 bcd	0.169 fg	0.561 bc	1.962 a	0.004 f	0.001 d	0.347 cd	0.341 bc	1.267 abc	0.093 bc
	140Ru	1.212 abc	0.435 abcde	1.728 bc	0.215 efg	0.262 c	1.625 ab	0.002 f	0.002 d	1.062 a	0.325 c	0.970 bcd	0.248 a
	Syrah	2.133 a	0.252 de	3.031 a	1.735 ab	0.654 bc	0.937 bcd	0.002 f	0.000 d	0.367 bcd	0.207 de	1.731 ab	0.183 ab
	Grenache	2.144 a	0.216 e	2.275 ab	2.147 a	0.730 bc	1.231 abc	0.003 f	0.001 d	0.825 ab	0.174 e	2.107 a	0.278 a

Supplementary Table S2.V. The transcript abundance of 12 ABA-related genes in the roots of nine grapevine genotypes before (day 1) and after (day 4) a drought treatment. P-values from a two-way ANOVA (n = 27) are presented in first block of the table for each gene. Genotype, day of sampling and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		NCED1	NCED2	ABF1	ABF2	Hyd1	Hyd2	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6	PP2C4	PP2C9
Genotypes		0.069	0.000	0.065	0.001	0.000	0.088	0.080	0.015	0.248	< 0.0001	0.465	0.012
Day		< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.001	0.294	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.138	< 0.0001	< 0.0001
Interaction		0.135	0.010	0.822	0.543	0.001	0.443	0.031	0.019	0.597	0.212	0.339	0.225
Genotype effect	RGM	0.246 a	0.701 b	0.381 a	0.908 ab	0.001 b	1.234 a	0.190 a	0.057 ab	0.186 a	0.141 bc	0.240 a	0.037 ab
	101-14 Mgt	0.761 a	1.363 a	0.613 a	0.866 ab	0.001 b	0.701 ab	0.190 a	0.047 ab	0.370 a	0.117 bc	0.326 a	0.027 ab
	SO4	0.068 a	0.546 b	0.356 a	0.594 b	0.000 b	1.047 ab	0.220 a	0.170 a	0.324 a	0.179 bc	0.267 a	0.056 ab
	161-49 C	0.335 a	0.549 b	0.515 a	0.845 ab	0.000 b	0.604 ab	0.142 a	0.125 ab	0.409 a	0.121 bc	0.258 a	0.061 ab
	41B Mgt	0.176 a	0.372 b	0.711 a	1.773 a	0.053 a	0.927 ab	0.306 a	0.168 a	0.635 a	0.099 c	0.490 a	0.090 a
	110R	0.501 a	0.456 b	0.815 a	0.176 b	0.006 b	0.790 ab	0.209 a	0.062 ab	0.505 a	0.266 ab	0.260 a	0.023 b
	140Ru	0.213 a	0.589 b	0.877 a	0.143 b	0.016 b	1.111 ab	0.143 a	0.033 b	0.514 a	0.409 a	0.442 a	0.081 ab
	Syrah	0.791 a	0.507 b	0.612 a	0.960 ab	0.001 b	0.640 ab	0.319 a	0.133 ab	0.416 a	0.115 bc	0.483 a	0.037 ab
	Grenache	0.478 a	0.399 b	0.374 a	0.862 ab	0.000 b	0.326 b	0.150 a	0.069 ab	0.371 a	0.144 bc	0.383 a	0.023 b
Day effects	Day 1	0.023 b	0.171 b	0.247 b	0.514 b	0.011 a	0.512 b	0.357 a	0.159 a	0.212 b	0.196 a	0.117 b	0.014 b
	Day 4	0.770 a	1.047 a	0.921 a	1.069 a	0.006 a	1.127 a	0.059 b	0.033 b	0.616 a	0.157 a	0.583 a	0.083 a

Interaction	Category	NCED1	NCED2	ABF1	ABF2	Hyd1	Hyd2	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6	PP2C4	PP2C9
Day 1	RGM	0.018 b	0.228 cd	0.149 c	0.657 abc	0.001 b	0.487 b	0.295 abcde	0.076 bc	0.140 b	0.189 bcd	0.103 c	0.013 cde
	101-14 Mgt	0.015 b	0.278 bcd	0.244 bc	0.292 abc	0.000 b	0.530 ab	0.272 bcde	0.068 bc	0.123 b	0.174 bcd	0.143 bc	0.006 de
	SO4	0.005 b	0.174 cd	0.198 c	0.309 abc	0.000 b	0.690 ab	0.365 abc	0.212 abc	0.271 ab	0.211 abcd	0.108 c	0.007 de
	161-49 C	0.009 b	0.178 cd	0.146 c	0.425 abc	0.000 b	0.576 ab	0.224 cde	0.195 abc	0.193 ab	0.141 bcd	0.086 c	0.010 de
	41B Mgt	0.018 b	0.161 cd	0.248 bc	1.707 ab	0.097 a	0.609 ab	0.559 ab	0.332 a	0.356 ab	0.024 d	0.081 c	0.055 abcde
	110R	0.050 b	0.153 cd	0.435 abc	0.104 c	0.001 b	0.410 b	0.355 abcd	0.107 bc	0.213 ab	0.332 abc	0.159 bc	0.013 cde
	140Ru	0.026 b	0.203 cd	0.446 abc	0.073 c	0.003 b	0.679 ab	0.249 bcde	0.047 bc	0.226 ab	0.448 a	0.207 abc	0.016 cde
	Syrah	0.057 b	0.108 cd	0.247 bc	0.811 abc	0.000 b	0.450 b	0.610 a	0.257 ab	0.280 ab	0.114 cd	0.096 c	0.003 e
	Grenache	0.013 b	0.056 d	0.108 c	0.252 bc	0.001 b	0.181 b	0.280 bcde	0.135 abc	0.109 b	0.131 bcd	0.064 c	0.001 e
Day 4	RGM	0.473 ab	1.175 b	0.613 abc	1.158 abc	0.001 b	1.981 a	0.086 cde	0.038 c	0.232 ab	0.092 cd	0.377 abc	0.061 abcde
	101-14 Mgt	1.507 a	2.448 a	0.981 abc	1.440 abc	0.001 b	0.871 ab	0.107 cde	0.026 c	0.618 ab	0.061 d	0.510 abc	0.049 abcde
	SO4	0.131 b	0.918 bcd	0.515 abc	0.878 abc	0.000 b	1.403 ab	0.074 cde	0.127 abc	0.376 ab	0.147 bcd	0.426 abc	0.105 abcd
	161-49 C	0.661 ab	0.920 bcd	0.884 abc	1.265 abc	0.001 b	0.631 ab	0.060 cde	0.056 bc	0.624 ab	0.100 cd	0.429 abc	0.112 abc
	41B Mgt	0.334 ab	0.584 bcd	1.173 ab	1.838 a	0.010 b	1.245 ab	0.054 cde	0.004 c	0.915 a	0.174 bcd	0.899 a	0.124 ab
	110R	0.952 ab	0.759 bcd	1.194 a	0.248 bc	0.011 b	1.169 ab	0.063 cde	0.018 c	0.797 ab	0.199 abcd	0.360 abc	0.034 bcde
	140Ru	0.400 ab	0.975 bc	1.309 a	0.212 bc	0.029 b	1.544 ab	0.036 de	0.018 c	0.801 ab	0.370 ab	0.678 abc	0.145 a
	Syrah	1.525 a	0.907 bcd	0.977 abc	1.110 abc	0.001 b	0.830 ab	0.028 e	0.008 c	0.552 ab	0.116 cd	0.870 ab	0.071 abcde
	Grenache	0.943 ab	0.742 bcd	0.640 abc	1.472 abc	0.000 b	0.471 b	0.020 e	0.004 c	0.632 ab	0.157 bcd	0.702 abc	0.045 bcde

Supplementary Table S2.VI. Pearson correlation matrix of all mean data. High correlation values are shown in bold (correlation coefficient > 0.7). Transcript abundance are presented in leaves (-L) and in roots (-R). Abbreviations: SWCmeta: soil water content (SWC) for plants coming from water potential measurement; SWCtrans: SWC for plants coming for transcriptional studies; SWP: stem water potential; RWP: root water potential.

Variables	ABA_{Stem}	PAF_{Stem}	DPA_{Stem}	ABA_{Root}	PA_{Root}	DPA_{Root}	NCED1L	NCED2L	ABF1L	ABF2L	RCAR5L	RCAR6L	SnRK2.1L	SnRK2.6L	PP2C4L	PP2C9L	NCED1R
ABA_{Stem}	**1.00**	**0.84**	**0.78**	**0.96**	**0.84**	**0.90**	**0.81**	-0.32	**0.81**	0.63	-0.48	-0.59	0.48	-0.34	**0.86**	**0.73**	0.67
PAF_{Stem}	**0.84**	**1.00**	0.39	**0.86**	**0.94**	0.57	0.55	-0.18	0.48	0.53	-0.33	-0.43	0.51	-0.18	0.69	0.65	0.35
DPA_{Stem}	**0.78**	0.39	**1.00**	**0.73**	0.41	**0.91**	**0.81**	-0.47	**0.87**	0.62	-0.32	-0.48	0.18	-0.45	**0.76**	0.60	0.64
ABA_{Root}	**0.96**	**0.86**	**0.73**	**1.00**	**0.92**	**0.85**	**0.83**	-0.30	**0.81**	0.66	-0.47	-0.57	0.57	-0.38	**0.82**	**0.80**	0.66
PA_{Root}	**0.84**	**0.94**	0.41	**0.92**	**1.00**	0.61	0.63	-0.14	0.56	0.57	-0.41	-0.46	0.63	-0.24	0.64	**0.70**	0.49
DPA_{Root}	**0.90**	0.57	**0.91**	**0.85**	0.61	**1.00**	**0.89**	-0.35	**0.92**	0.58	-0.47	-0.60	0.34	-0.33	**0.85**	**0.72**	**0.72**
NCED1L	**0.81**	0.55	**0.81**	**0.83**	0.63	**0.89**	**1.00**	-0.33	**0.97**	0.50	-0.49	-0.55	0.36	-0.29	**0.86**	**0.83**	**0.73**
NCED2L	-0.32	-0.18	-0.47	-0.30	-0.14	-0.35	-0.33	**1.00**	-0.32	-0.28	0.00	0.37	0.36	0.51	-0.33	-0.13	-0.19
ABF1L	**0.81**	0.48	**0.87**	**0.81**	0.56	**0.92**	**0.97**	-0.32	**1.00**	0.51	-0.53	-0.57	0.40	-0.31	**0.85**	**0.82**	**0.78**
ABF2L	0.63	0.53	0.62	0.66	0.57	0.58	0.50	-0.28	0.51	**1.00**	-0.31	-0.29	0.16	-0.11	0.63	0.43	0.51
RCAR5L	-0.48	-0.33	-0.32	-0.47	-0.41	-0.47	-0.49	0.00	-0.53	-0.31	**1.00**	0.57	-0.42	-0.09	-0.57	-0.48	-0.51
RCAR6L	-0.59	-0.43	-0.48	-0.57	-0.46	-0.60	-0.55	0.37	-0.57	-0.29	0.57	**1.00**	-0.32	0.30	-0.58	-0.46	-0.49
SnRK2.1L	0.48	0.51	0.18	0.57	0.63	0.34	0.36	0.36	0.40	0.16	-0.42	-0.32	**1.00**	-0.05	0.35	0.66	0.30
SnRK2.6L	-0.34	-0.18	-0.45	-0.38	-0.24	-0.33	-0.29	0.51	-0.31	-0.11	-0.09	0.30	-0.05	**1.00**	-0.07	-0.10	-0.28
PP2C4L	**0.86**	0.69	**0.76**	**0.82**	0.64	**0.85**	**0.86**	-0.33	**0.85**	0.63	-0.57	-0.58	0.35	-0.07	**1.00**	**0.83**	0.64
PP2C9L	**0.73**	0.65	0.60	**0.80**	**0.70**	**0.72**	**0.83**	-0.13	**0.82**	0.43	-0.48	-0.46	0.66	-0.10	**0.83**	**1.00**	0.51
NCED1R	0.67	0.35	0.64	0.66	0.49	**0.72**	**0.73**	-0.19	**0.78**	0.51	-0.51	-0.49	0.30	-0.28	0.64	0.51	**1.00**
NCED2R	0.19	0.08	0.07	0.22	0.21	0.20	0.30	0.14	0.32	0.19	-0.51	-0.31	0.26	0.20	0.35	0.27	0.66
ABF1R	0.47	0.37	0.30	0.45	0.41	0.50	0.58	0.03	0.61	0.18	-0.56	-0.47	0.42	0.12	0.63	0.57	0.67
ABF2R	0.33	0.32	0.30	0.33	0.28	0.25	0.21	-0.07	0.24	0.54	0.01	0.00	0.10	0.00	0.42	0.24	0.49
RCAR5R	-0.55	-0.46	-0.32	-0.56	-0.53	-0.53	-0.56	-0.14	-0.58	-0.41	**0.83**	0.43	-0.53	-0.24	-0.66	-0.61	-0.55
RCAR6R	-0.56	-0.42	-0.37	-0.54	-0.48	-0.53	-0.54	0.22	-0.57	-0.38	**0.85**	0.60	-0.37	-0.14	-0.63	-0.53	-0.55
SnRK2.1R	0.65	0.54	0.48	0.61	0.51	0.62	0.67	-0.08	**0.70**	0.22	-0.47	-0.48	0.48	-0.04	**0.76**	**0.70**	0.67
SnRK2.6R	-0.03	0.07	-0.16	-0.01	0.07	-0.03	0.01	-0.03	0.01	-0.45	-0.21	-0.27	0.23	0.07	-0.08	0.11	-0.31
PP2C4R	0.67	0.48	0.64	0.66	0.48	**0.71**	0.67	-0.28	**0.74**	0.48	-0.61	-0.57	0.40	-0.08	**0.84**	**0.72**	0.65
PP2C9R	0.32	0.30	0.21	0.34	0.30	0.37	0.36	0.21	0.40	0.15	-0.32	-0.31	0.61	0.32	0.53	0.66	0.23
Hyd1L	0.12	0.06	0.13	0.12	0.12	0.06	0.03	-0.09	0.06	0.17	-0.06	-0.06	0.10	-0.34	-0.08	-0.10	0.14
Hyd1R	-0.11	-0.01	-0.11	-0.10	-0.07	-0.10	-0.05	0.08	-0.09	-0.21	0.69	0.16	-0.03	0.04	-0.12	-0.01	-0.14
Hyd2L	0.57	0.51	0.38	0.58	0.56	0.59	**0.73**	0.08	0.66	0.17	-0.44	-0.45	0.51	0.09	0.62	**0.73**	0.41
Hyd2R	0.08	0.07	-0.01	0.07	0.09	0.13	0.16	0.15	0.17	0.03	-0.44	-0.36	0.13	0.36	0.26	0.18	0.13
SWCmeta	-0.66	-0.47	-0.47	-0.63	-0.53	-0.66	-0.64	-0.08	-0.67	-0.40	0.66	0.66	-0.56	-0.06	**-0.74**	-0.66	-0.68
SWCtrans	-0.57	-0.42	-0.40	-0.56	-0.48	-0.57	-0.60	-0.09	-0.62	-0.41	0.69	0.60	-0.48	-0.16	**-0.71**	-0.62	-0.65
SWP	**-0.87**	**-0.71**	-0.63	**-0.84**	**-0.74**	**-0.81**	**-0.77**	0.22	**-0.76**	-0.53	0.59	**0.70**	-0.47	0.15	**-0.83**	**-0.70**	**-0.76**
RWP	**-0.89**	**-0.73**	-0.65	**-0.87**	**-0.77**	**-0.84**	**-0.79**	0.20	**-0.80**	-0.50	0.59	0.68	-0.56	0.14	**-0.85**	**-0.78**	**-0.70**

Variables	NCED2R	ABF1R	ABF2R	RCAR5R	RCAR6R	SnRK2.1R	SnRK2.6R	PP2C4R	PP2C9R	Hyd1L	Hyd1R	Hyd2L	Hyd2R	SWCmeta	SWCtrans	SWP	RWP
ABA_{Stem}	0.19	0.47	0.33	-0.55	-0.56	0.65	-0.03	0.67	0.32	0.12	-0.11	0.57	0.08	-0.66	-0.57	**-0.87**	**-0.89**
PAF_{Stem}	0.08	0.37	0.32	-0.46	-0.42	0.54	0.07	0.48	0.30	0.06	-0.01	0.51	0.07	-0.47	-0.42	**-0.71**	**-0.73**
DPA_{Stem}	0.07	0.30	0.30	-0.32	-0.37	0.48	-0.16	0.64	0.21	0.13	-0.11	0.38	-0.01	-0.47	-0.40	-0.63	-0.65
ABA_{Root}	0.22	0.45	0.33	-0.56	-0.54	0.61	-0.01	0.66	0.34	0.12	-0.10	0.58	0.07	-0.63	-0.56	**-0.84**	**-0.87**
PA_{Root}	0.21	0.41	0.28	-0.53	-0.48	0.51	0.07	0.48	0.30	0.12	-0.07	0.56	0.09	-0.53	-0.48	**-0.74**	**-0.77**
DPA_{Root}	0.20	0.50	0.25	-0.53	-0.53	0.62	-0.03	**0.71**	0.37	0.06	-0.10	0.59	0.13	-0.66	-0.57	**-0.81**	**-0.84**
NCED1L	0.30	0.58	0.21	-0.56	-0.54	0.67	0.01	0.67	0.36	0.03	-0.05	**0.73**	0.16	-0.64	-0.60	**-0.77**	**-0.79**
NCED2L	0.14	0.03	-0.07	-0.14	0.22	-0.08	-0.03	-0.28	0.21	-0.09	0.08	0.08	0.15	-0.08	-0.09	0.22	0.20
ABF1L	0.32	0.61	0.24	-0.58	-0.57	**0.70**	0.01	0.74	0.40	0.06	-0.09	0.66	0.17	-0.67	-0.62	**-0.76**	**-0.80**
ABF2L	0.19	0.18	0.54	-0.41	-0.38	0.22	-0.45	0.48	0.15	0.17	-0.21	0.17	0.03	-0.40	-0.41	-0.53	-0.50
RCAR5L	-0.51	-0.56	0.01	**0.83**	**0.85**	-0.47	-0.21	-0.61	-0.32	-0.06	0.69	-0.44	-0.44	0.66	0.69	0.59	0.59
RCAR6L	-0.31	-0.47	0.00	0.43	0.60	-0.48	-0.27	-0.57	-0.31	-0.06	0.16	-0.45	-0.36	0.66	0.60	**0.70**	0.68
SnRK2.1L	0.26	0.42	0.10	-0.53	-0.37	0.48	0.23	0.40	0.61	0.10	-0.03	0.51	0.13	-0.56	-0.48	-0.47	-0.56
SnRK2.6L	0.20	0.12	0.00	-0.24	-0.14	-0.04	0.07	-0.08	0.32	-0.34	0.04	0.09	0.36	-0.06	-0.16	0.15	0.14
PP2C4L	0.35	0.63	0.42	-0.66	-0.63	**0.76**	-0.08	**0.84**	0.53	-0.08	-0.12	0.62	0.26	**-0.74**	**-0.71**	**-0.83**	**-0.85**
PP2C9L	0.27	0.57	0.24	-0.61	-0.53	**0.70**	0.11	**0.72**	0.66	-0.10	-0.01	**0.73**	0.18	-0.66	-0.62	**-0.70**	**-0.78**
NCED1R	0.66	0.67	0.49	-0.55	-0.55	0.67	-0.31	0.65	0.23	0.14	-0.14	0.41	0.13	-0.68	-0.65	**-0.76**	**-0.70**
NCED2R	**1.00**	0.68	0.49	-0.56	-0.48	0.54	-0.31	0.54	0.44	-0.16	-0.07	0.24	0.45	-0.66	**-0.71**	-0.50	-0.43
ABF1R	0.68	**1.00**	0.45	-0.62	-0.58	**0.88**	0.00	0.69	0.61	-0.12	0.06	0.55	0.41	**-0.74**	**-0.76**	-0.61	-0.62
ABF2R	0.49	0.45	**1.00**	-0.19	-0.08	0.50	**-0.70**	0.51	0.35	-0.13	0.26	-0.03	0.09	-0.38	-0.41	-0.30	-0.26
RCAR5R	-0.56	-0.62	-0.19	**1.00**	**0.85**	-0.54	-0.03	-0.68	-0.53	-0.03	0.37	-0.55	-0.42	**0.78**	**0.83**	0.64	0.66
RCAR6R	-0.48	-0.58	-0.08	**0.85**	**1.00**	-0.48	-0.23	-0.67	-0.33	-0.16	0.48	-0.44	-0.37	0.66	**0.70**	0.64	0.64
SnRK2.1R	0.54	**0.88**	0.50	-0.54	-0.48	**1.00**	-0.07	**0.78**	0.64	-0.23	0.14	0.63	0.36	**-0.77**	**-0.72**	**-0.75**	**-0.77**
SnRK2.6R	-0.31	0.00	**-0.70**	-0.03	-0.23	-0.07	**1.00**	-0.09	0.01	0.05	-0.15	0.20	0.11	0.12	0.16	0.05	-0.03
PP2C4R	0.54	0.69	0.51	-0.68	-0.67	**0.78**	-0.09	**1.00**	0.63	-0.22	-0.09	0.47	0.48	**-0.79**	**-0.78**	**-0.70**	**-0.74**
PP2C9R	0.44	0.61	0.35	-0.53	-0.33	0.64	0.01	0.63	**1.00**	-0.38	0.24	0.53	0.43	-0.67	-0.66	-0.45	-0.56
Hyd1L	-0.16	-0.12	-0.13	-0.03	-0.16	-0.23	0.05	-0.22	-0.38	**1.00**	-0.31	-0.15	-0.33	0.17	0.16	-0.01	0.05
Hyd1R	-0.07	0.06	0.26	0.37	0.48	0.14	-0.15	-0.09	0.24	-0.31	**1.00**	0.08	0.00	0.03	0.09	0.11	0.08
Hyd2L	0.24	0.55	-0.03	-0.55	-0.44	0.63	0.20	0.47	0.53	-0.15	0.08	**1.00**	0.39	-0.63	-0.60	-0.63	**-0.70**
Hyd2R	0.45	0.41	0.09	-0.42	-0.37	0.36	0.11	0.48	0.43	-0.33	0.00	0.39	**1.00**	-0.55	-0.61	-0.26	-0.30
SWCmeta	-0.66	**-0.74**	-0.38	**0.78**	0.66	**-0.77**	0.12	**-0.79**	-0.67	0.17	0.03	-0.63	-0.55	**1.00**	**0.97**	**0.81**	**0.82**
SWCtrans	**-0.71**	**-0.76**	-0.41	**0.83**	**0.70**	**-0.72**	0.16	**-0.78**	-0.66	0.16	0.09	-0.60	-0.61	**0.97**	**1.00**	**0.72**	0.74
SWP	-0.50	-0.61	-0.30	0.64	0.64	**-0.75**	0.05	**-0.70**	-0.45	-0.01	0.11	-0.63	-0.26	**0.81**	**0.72**	**1.00**	**0.98**
RWP	-0.43	-0.62	-0.26	0.66	0.64	**-0.77**	-0.03	**-0.74**	-0.56	0.05	0.08	**-0.70**	-0.30	**0.82**	**0.74**	**0.98**	**1.00**

Supplementary Table S2.VII. Coordinates of variables from the discriminant analysis of gene expression data (F1, F2, Fig. 2.5) and from principle component analysis of mean transcript abundance and metabolite data (PC1, PC2, Fig. 2.6). Abbreviation: abscisic acid (ABA), phaseic acid (PA) and dihydrophaseic (DPA) content in shoot (-S) and root (-R) sap; transcript abundance in leaves (-L) and roots (-R).

	F1	F2	PC1	PC2
ABAS	-	-	0.897	-0.320
PAS	-	-	0.710	-0.192
DPAS	-	-	0.734	-0.482
ABAR	-	-	0.899	-0.310
PAR	-	-	0.764	-0.179
DPAR	-	-	0.880	-0.297
NCED1L	-0.417	-0.130	0.887	-0.202
NCED2L	0.488	-0.108	-0.234	0.616
ABF1L	-0.454	-0.124	0.902	-0.188
ABF2L	-0.460	0.582	0.596	-0.346
Hyd1L	-0.390	-0.042	0.001	-0.457
Hyd2L	-0.016	-0.323	0.696	0.238
RCAR5L	0.037	0.235	-0.672	-0.303
RCAR6L	0.399	0.368	-0.666	0.050
SnRK2.1L	-0.078	-0.323	0.558	0.254
SnRK2.6L	0.850	0.164	-0.166	0.750
PP2C4L	-0.318	0.061	0.929	-0.059
PP2C9L	-0.229	-0.127	0.861	0.042
NCED1R	-0.316	0.054	0.778	-0.087
NCED2R	0.149	0.090	0.477	0.527
ABF1R	0.008	-0.117	0.726	0.437
ABF2R	-0.119	0.518	0.396	0.042
Hyd1R	0.073	0.046	-0.140	0.080
Hyd2R	0.235	-0.099	0.314	0.620
RCAR5R	-0.065	0.061	-0.753	-0.386
RCAR6R	0.037	0.126	-0.723	-0.205
SnRK2.1R	-0.113	-0.079	0.809	0.266
SnRK2.6R	0.132	-0.690	-0.023	0.125
PP2C4R	-0.172	0.049	0.859	0.172
PP2C9R	0.179	-0.038	0.559	0.570

Chapitre 3 : Conductivité hydraulique et expression des aquaporines

I- Introduction

Selon la théorie de cohésion-tension, le flux hydrique dans une plante des racines vers les feuilles se fait sous la forme d'une chaine ininterrompue de molécules d'eau soumises au gradient de potentiel entre les 2 extrémités du système (Tyermann et al., 2009). Le rapport entre le flux d'eau (la transpiration) et le gradient de potentiel hydrique définit la conductance hydraulique du système. Les différentes parties de la plante disposent de propriétés hydrauliques variables et constituent un ensemble de résistances en série vis-à-vis du flux transpiratoire (Zimmerman, 1983). La résistance majeure au transfert de l'eau se situe au niveau stomatique, mais le système racinaire peut présenter une résistance non négligeable à l'échelle de la plante (Steudle, 2000). Afin de maintenir un état hydrique compatible avec la mise en œuvre des processus physiologiques dans un environnement variable, la plante ajuste en permanence ces résistances. La régulation stomatique fait partie de ces processus d'ajustement. La conductance hydraulique racinaire varie également au cours du temps, spatialement et en fonction des paramètres de l'environnement (Vandeleur et al., 2009 ;Gambetta et al., 2013). Des modifications anatomiques et l'activité des aquaporines sont associées à ces changements (Barrios-Masias et al., 2015). Des processus d'embolie y contribuent également (Domec et al., 2006), avec une sensibilité accrue pour les racines et les feuilles chez la vigne (Tramontini et Lovisolo, 2016)

En plus de la signalisation chimique entre les racines et les feuilles via l'ABA, la signalisation hydraulique pourrait jouer un rôle non négligeable dans la régulation de l'ouverture stomatique à l'échelle de la plante entière (Christmann et al., 2007 ; 2013, Maurel et al., 2010). Il y aurait un effet direct des gradients de potentiel hydrique entre racines et feuilles sur la turgescence des cellules de garde. Des corrélations étroites entre la conductance totale de la plante et la conductance stomatique ont été rapportées (Hubbard et al., 2001, Tombesi et al., 2015 ; Martorell et al. 2015). Par ailleurs la conductance de la plante pourrait participer au contrôle génétique du caractère iso/anisohydrique chez la vigne (Coupel-Ledru et al., 2014). Une relation entre le flux transpiratoire ou la conductance stomatique et la conductivité hydraulique racinaire a été mise en évidence chez plusieurs espèces (Domec et al., 2006 ; Franks et al., 2007 ; Vandeleur et al., 2009 ; Parent et al., 2009, Sutka et al., 2011), ce qui n'exclue pas un médiateur chimique entre les deux parties de la plante ou une interaction entre les deux types de signaux, comme cela a été démontré à l'échelle de la feuille (Pantin et al., 2013).

Le transport de l'eau au travers des tissus de la plante, notamment les racines, peut s'effectuer selon 3 voies : le transport apoplastique dans les espaces intercellulaires via les parois, le transport symplastique via les plasmodesmes et la voie transcellulaire à travers les membranes cellulaires (Steudle et Patterson, 1998). Les aquaporines sont des protéines membranaires qui contrôlent la voie transcellulaire de l'eau et des petits solutés (Maurel et al., 2015). La contribution des aquaporines au contrôle du transport de l'eau, notamment au niveau des racines peut varier de 20 à 90% selon les espèces (Javot et Maurel, 2002). Les aquaporines interviennent dans la régulation des flux hydriques au niveau des racines, des feuilles et dans les mécanismes de réparation des embolies des vaisseaux du xylème. Il existe une grande diversité d'aquaporines chez les plantes supérieures. Chez la vigne, plus de 25 homologues codant des aquaporines ont été identifiés (Fouquet et al., 2008, Shelden et al., 2009). De manière générale, on observe des différences d'expression des différentes formes d'aquaporines entre cultivars ou accessions naturelles au sein d'une même espèce (références citées par Maurel et al., 2015) qui pourraient expliquer les mécanismes distincts d'adaptation au déficit hydrique. Pour une même espèce, les profils d'expression sont cellule et tissu spécifiques, et peuvent varier le long de l'axe racinaire par exemple (Gambetta et al., 2013). L'activité des aquaporines est en général inhibée en conditions de contrainte hydrique, mais il existe une variabilité de réponse en fonction des espèces étudiées et des conditions de contrainte hydrique mises en œuvre (Tyerman et al., 2009 ; Maurel et al., 2015). L'ABA participe au contrôle de l'expression et de l'activité des aquaporines (Finkelstein, 2013).

Il existe une variabilité génétique de la conductivité hydraulique aussi bien chez les espèces herbacées que les espèces pérennes (McElrone et al., 2004 ; références citées par Domec et al., 2006 et par Sutka et al., 2011 ; Lauri et al., 2011). Au niveau racinaire, cette variabilité a été étudiée dans le cas des plantes greffées afin de mieux comprendre les interactions entre le porte-greffe et le greffon, et les effets du porte-greffe sur le développement de la partie aérienne (Atkinson et al., 2003 ; Cohen et al., 2007 ; Solari et al., 2006 ; Clearwater et al., 2007 ; Rodriguez-Gamir et al., 2010 ; Gambetta et al., 2012). Chez la vigne, des différences de caractéristiques hydrauliques entre génotypes ont été mises en évidence au niveau du pétiole (Schultz et al., 2003), de la feuille entière (Pou et al., 2012) et du rameau (Alsina et al., 2007). Pour le compartiment racinaire, des différences sont rapportées entre génotypes au sein de l'espèce *Vitis vinifera* (Vandeleur et al., 2009) et des porte-greffes (Peterlunger et al., 1990 ; de Herralde et al., 2006 ; Lovisolo et al.; 2008 ; Alsina et al., 2011 ; Peccoux, 2011 ; Gambetta et al., 2012 ; Tramontini et al. ; 2013 ;Barrios-Masias et al., 2015). Des réponses variables à la contrainte hydrique ont aussi été mises en évidence. Ces différences sont associées à une variabilité de l'expression de certaines aquaporines, à la part de conductivité liée à l'activité des aquaporines, et à des processus de subérisation des racines (Vandeleur et al., 2009 ; Barrios-Masias et al., 2015). Un lien avec la sensibilité à la formation d'embolies dans les tissus xylémiens est envisagé (Knipfer et al., 2015).

L'expression d'un certain nombre de gènes codant des aquaporines a été étudiée chez la vigne dans les racines, les pétioles et les feuilles, pour différents génotypes (Fouquet, 2005 ; Galmès et al., 2007, Vandeleur et al., 2009 ; Tyerman et al., 2009 ; Gambetta et al., 2012 ; 2013 ; Pou et al., 2012 ; Chittara et al., 2014 ; Zarrouk et al., 2015). Les modifications d'expression au cours du temps, dans les différents tissus racinaires et sous l'effet de différents régimes hydriques ont été rapportées. Les aquaporines de type PIP les plus exprimées dans les racines sont VviPIP1.1 et VviPIP2.2. L'expression de certaines aquaporines est corrélée avec des modifications de la conductivité hydraulique au niveau racinaire et au niveau foliaire. Elles pourraient contribuer au déterminisme du caractère (an)isohydrique (Vandeleur et al., 2009). La sur-expression constitutive du gène *VviPIP2.4* chez la vigne a permis de montrer que les aquaporines jouent un rôle important dans la régulation des flux hydriques en situation hydrique non limitante, et moindre en situation de contrainte hydrique (Perrone et al., 2012).

L'objectif de l'étude présentée ci-après est de déterminer les caractéristiques liées à l'hydraulicité des différents compartiments de la bouture pour les 9 génotypes. Une première analyse a consisté à mesurer la conductance hydraulique racinaire et de la partie aérienne en situation non contraignante et à évaluer la part associée à l'activité des aquaporines. Dans un second temps, l'expression de 7 gènes codant des aquaporines de type PIP a été évaluée dans les racines et les feuilles des 9 génotypes au cours du cycle de dessèchement décrit au chapitre précédent. Les réponses en matière d'expression des aquaporines et des gènes du métabolisme de l'ABA ont été finalement comparées.

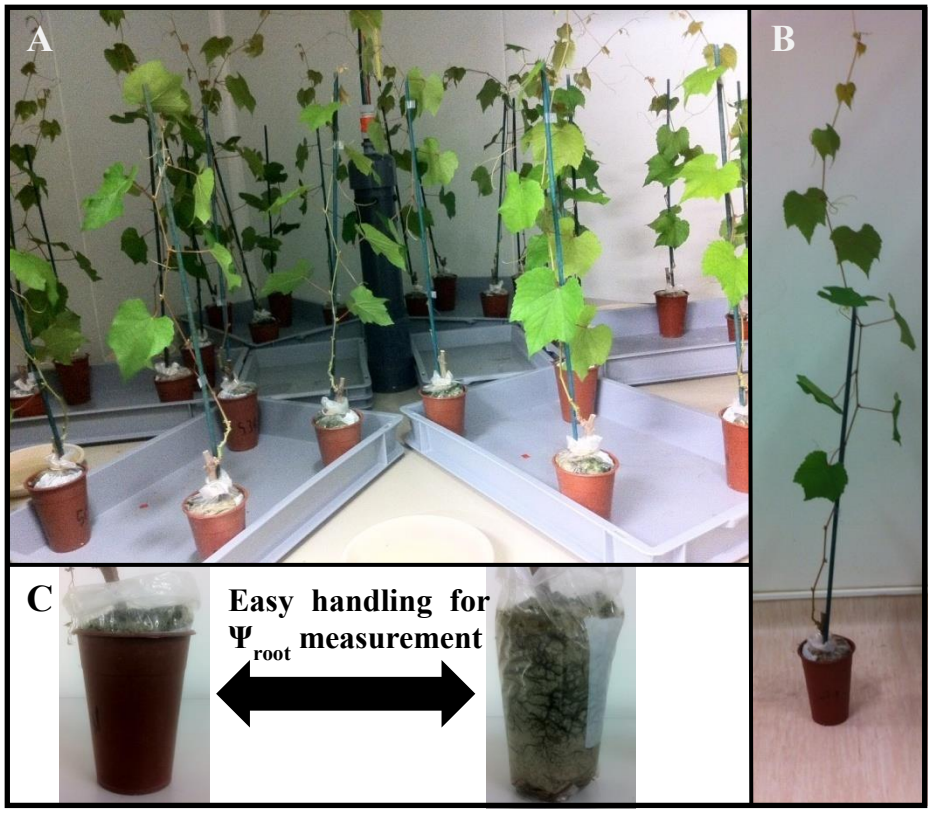


Figure 3.1- Experimental design for this experiment in the growth chamber. A : the rotating platform with plants. B : an example of one 41B cutting after leaf area normalisation. C : the growing system with the root system and substrate enclosed in a perforated plastic bag enabling the easy transfer of the root system to the pressure chamber for hydric potential measurements.

II- Matériel et méthodes

II-1. Matériel végétal et conditions de cultures

Les génotypes étudiés, la production du matériel végétal et les conditions de culture jusqu'à l'obtention de plantes avec environ une quinzaine de feuilles sont identiques à celles décrites au chapitre 2. La quantification des transcrits liés aux aquaporines a été réalisée sur les échantillons prélevés pendant l'expérimentation décrite au chapitre 2 durant la dernière heure d'obscurité de chacun des quatre jours suivant l'arrêt de l'irrigation en chambre de culture (Figure 3.1).

Des mesures de conductivité hydraulique ont été réalisées sur des plantes supplémentaires dont le substrat était maintenu à capacité au champ. Pour les génotypes 110R, 140Ru et Syrah (Expérimentation 1), cinq plantes de chaque génotype ont été acclimatées en chambre de culture durant une semaine selon les conditions décrites au chapitre 2, puis leur conductivité hydraulique a été mesurée entre 8h et 13h après le début de la période diurne. Pour les génotypes RGM, 101-14MGt, SO4, 161-49C, 41B, Syrah et Grenache (Expérimentation 2), les plantes ont été maintenues en serre durant quatre mois supplémentaires en raison d'un aléa lié au matériel de mesure. Les mesures ont été réalisées en serre entre 13h et 18h sur cinq plantes par génotype. La surface foliaire des plants a été estimée à partir de la régression établie entre la longueur de la nervure principale et la surface d'une feuille (obtenue à l'aide d'un planimètre (Li-COR 3100, Li-COR, Lincoln, NE, USA)) déterminée pour chaque génotype (Figure S3.1). La biomasse fraiche des parties aériennes et racinaires, ainsi que la longueur et le diamètre de la section des tiges ont été déterminés après les mesures de conductivité hydraulique.

II-2. Mesures des paramètres hydrauliques

II-2.1. Définitions

La conductance hydraulique (***Kh***, Kg s^{-1} MPa^{-1} ou mmol.s^{-1} MPa^{-1}) est définie selon l'équation 1 comme étant le flux d'eau (**Q**, Kg.s^{-1} ou mmol.s^{-1}) traversant les deux extrémités d'un conduit soumis à un gradient de pression ($\Delta\boldsymbol{\Psi}$, MPa). La conductance hydraulique peut être mesurée à différents niveaux (plante, tissus, membrane..). Elle peut être exprimée par unité de longueur du conduit (***l***, m) ou de section de la surface traversée (***S***, m^2) par le flux selon l'équation 2. Cette expression définit la conductivité hydraulique (***kh***).

$$\textbf{(1)}\ Kh = Q / \Delta\Psi$$

$$\textbf{(2)}\ kh_{length} = Kh / l \quad \textbf{ou} \quad kh_{area} = Kh / S$$

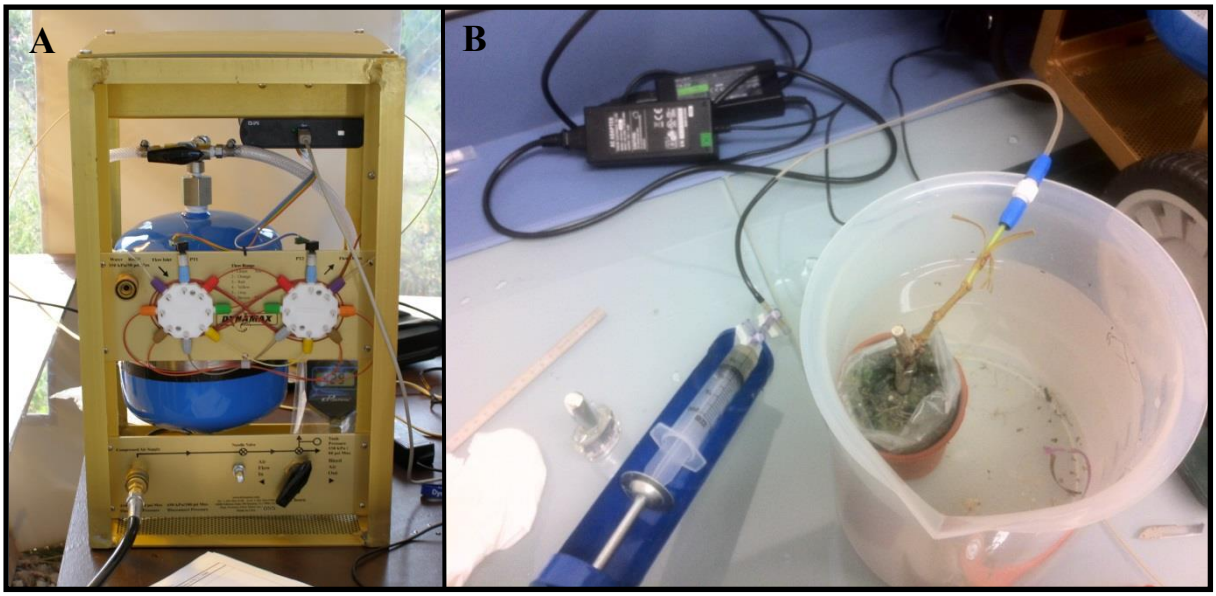


Figure 3.2- A : HPFM system (HPFM-Gen3, Dynamax Inc., Houston TX, USA, Tyree et al., 1995) for hydraulic conductance measurements. B : Set-up for the Fenton solution injection to the root system.

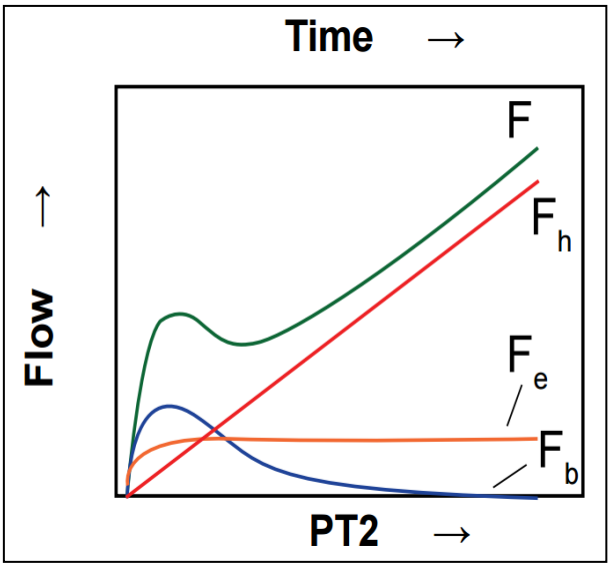


Figure 3.3- HPFM measurement of total flow (F) under « transient », including the elastic component (Fe), the air bubble artefact (Fb) and the real flow through the organ (Fh).

II-2.2. Description du système HPFM de mesure de la conductance hydraulique

Les mesures de conductivité hydraulique ont été réalisées sur l'ensemble du système racinaire et du système foliaire par un HPFM (Figure 3.2A), High Pressure Flow Meter, HPFM-Gen3, Dynamax Inc., Houston TX, USA, Tyree *et al.*, 1995).

L'HPFM est un appareil de mesure de flux hydrique couplé à deux capteurs de pression PT1 et PT2. Au sein de l'appareil, différents tubes calibrés permettent de calculer le flux en fonction de la pression appliquée donnée par le capteur PT1. Lorsque le tissu mesuré est rempli d'eau, les propriétés de cohésion-tension des molécules d'eau, permettent au capteur PT2 de déterminer la pression en sortie du tissu. Les données recueillies permettent de calculer Kh selon l'équation 1. Deux modes de mesure sont disponibles, l'un à pression constante "Quasi-stationnaire", et l'autre à pression croissante "Transitoire". Les deux modes de mesures donnent des valeurs similaires, mais pour les mesures racinaires, il est préférable d'utiliser le mode "Transitoire" (Tyree *et al.*, 1995).

La mesure en mode "Transitoire" permet d'établir une relation linéaire entre le flux et la pression donnée par le capteur PT2. Cependant cette relation n'est linéaire que pour des fortes pressions (0,3 à 0,5 MPa) en raison de différents artefacts liés à l'appareil ou à l'organe connecté à faibles pressions (Figure 3.3). En effet le flux mesuré (F) peut être décomposé en trois composantes :

- La composante élastique (Fe) : principalement due à l'élasticité des composants de l'HPFM. Elle devient rapidement constante et n'influence plus la mesure.
- La composante liée aux bulles d'air (Fb) : lors de la connexion avec l'organe à mesurer, ou au sein de l'appareil ou du tissu mesuré, la présence de bulle d'air entraine la surestimation du flux à basse pression. Au fur et à mesure que la pression s'accroit, les bulles sont comprimées, puis se dissolvent n'influençant plus la mesure.
- La composante hydraulique (Fh) : celle que l'on cherche à mesurer, et qui est déterminée après avoir éliminé les composantes Fe et Fb.

II-2.3. Mise en œuvre des mesures

Les tiges des plants ont été sectionnées 10 cm au-dessus du point d'insertion de la tige sur le bois de la bouture. La base de la tige a été maintenue dans l'eau pendant les mesures racinaires. Après avoir supprimé les tissus péri-xylémiens, la coupe a été rafraichie au scalpel et maintenue humide durant la connexion avec l'HPFM. Durant 5 min, de l'eau osmosée et dégazéifiée a été perfusée au travers de la tige à une pression de 0,5 MPa de manière à éliminer toute embolie xylémienne. Deux mesures en mode "Transitoire" ont été réalisées, puis la tige a été connectée à une seringue sous pression de manière à injecter en dix minutes 1 mL du réactif de Fenton (1V/1V, 0.6mM H_2O_2/3mM $FeSO_4$) (Figure 3.2B).

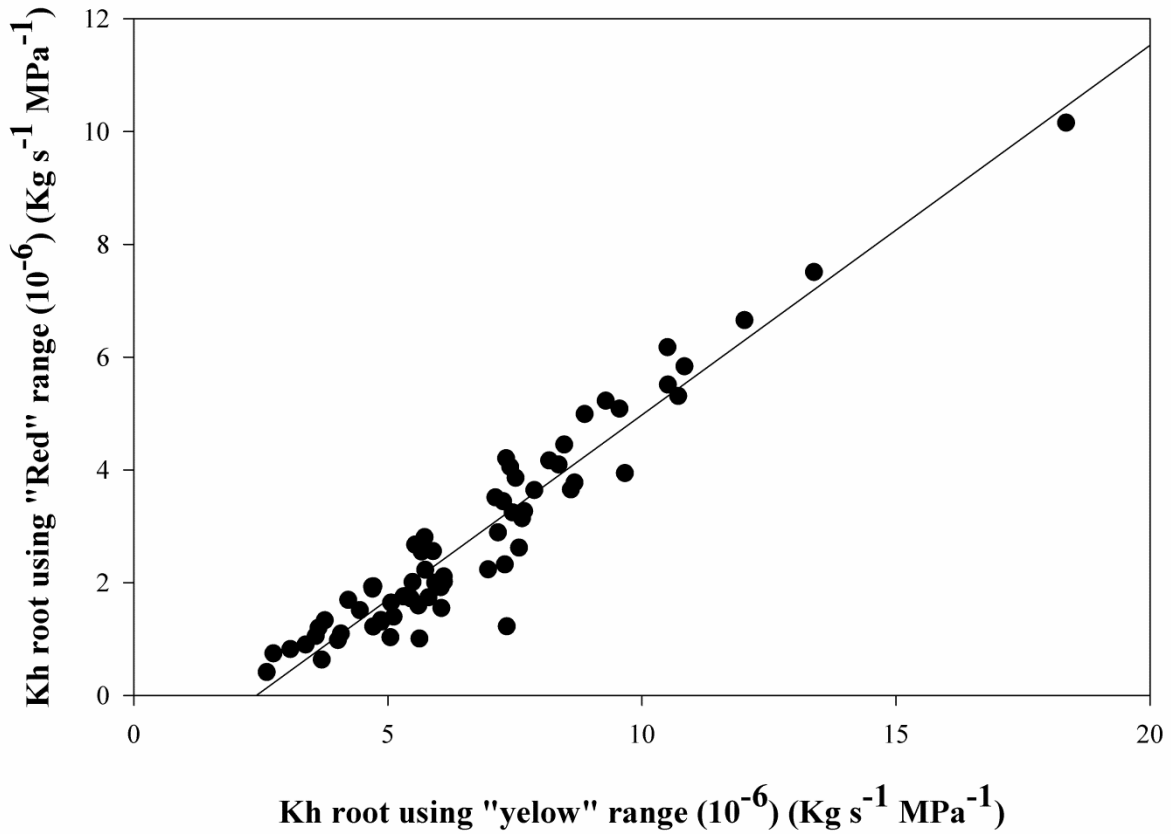


Figure 3.4- Relationship between hydraulic conductance measurements made on root parts with the « Red » and « Yellow » ranges (n = 67, R^2= 0,917, p-value = 6,9 .10^{-37}). Equation : Kh_{red} = 0.656 Kh_{Yelow} - 1.58

La réaction produite génère des radicaux libres ($OH^{\cdot}$) dont le rôle est d'inhiber l'activité des aquaporines (Henzler *et al.*, 2004; Pou *et al.*, 2012). La coupe a de nouveau été rafraichie au scalpel, puis la tige a été reconnectée à l'HPFM afin de réaliser deux nouvelles mesures en mode "Transitoire".

Dans notre expérimentation, la disparité de taille des échantillons connectés l'HPFM a conduit à l'utilisation de deux gammes de flux, la gamme "yellow" de 0 à 28.10^{-6} (Kg s^{-1}) pour les parties aériennes et la gamme "red" de 0 à $3,6.10^{-6}$ (Kg s^{-1}) pour les parties racinaires. Des tests préliminaires ont montré que les valeurs de conductivité étaient différentes en fonction de la gamme choisie pour un même échantillon, l'ensemble des échantillons racinaires ont donc été mesurés selon ces deux gammes. Les valeurs obtenues pour les systèmes racinaires étant très fortement corrélées entre les deux gammes (Figure 3.4, R^2= 0.92), les valeurs obtenues grâce à la gamme "red" ont ensuite été transformées de manière à exprimer l'ensemble des données selon la gamme "yellow" selon l'équation 3. Les données ont ensuite été corrigées de manière à exprimer la conductivité hydraulique à 25°C selon l'équation 4.

$$\textbf{(3)}\ \mathbf{Kh_{red} = 0.656\ Kh_{Yelow} - 1.58}$$

$$\textbf{(4)}\ \mathbf{Kh_{25°C} = Kh_{T°}\ (0,554 + 0,0225\ T°) / (0,554 + 0,0225 * 25).}$$

Après ajustement des données, la conductance hydraulique des différents organes a été normalisée par les caractères morphologiques pour obtenir des valeurs de conductance spécifique (unité de surface foliaire ou biomasse racinaire) ou de conductivité hydraulique (unité de surface de section ou longueur de la tige) selon l'équation 2. Comme au sein de la plante les résistances hydrauliques (1/Kh) sont additives car considérées comme en série, la conductance hydraulique de la plante entière a été calculée selon l'équation (5).

$$\textbf{(5)}\ \mathbf{Kh_{plant} = 1/Kh_{shoot} + 1/\ Kh_{root}}$$

Tableau 3.I- Main characteristics of the primers used for RT-PCR (Gambetta et al., 2012).

	Forward primer (5' to 3')	**Reverse primer (5' to 3')**
VIT_PIP1.1	GAGTGGTGCTGGGCGTTGATC	GTGGAATGCTACAGACATTAC
VIT_PIP1.2:1.4	GTTTCTTCTTTTATTTGCTGC	GCTGCCCATTGTAATAGAAGC
VIT_PIP1.3:1.5	CCATTCAAGAGCAGGGCTTGAG	ATTTACACACTTAGGTAGTAGG
VIT_PIP2.1	CCATTTTGATACCTTCTTCC	TATCTACAATTTCATGCCCTC
VIT_PIP2.2	AACTAAAAACCCACAACACCC	CATCATCATAATCATCTCTGG
VIT_PIP2.3	CATTTCAATCCACATGGTCCG	CCACAAATTCGTCACACATCC
VIT_PIP2.4	GATGACCATTGGATGTTCTGG	GCTTTAATGGCCGCTGCTCTC
VIT_Actin	CTTGCATCCCTCAGCACCTT	TCCTGTGGACAATGGATGGA
VIT_EF1γ	CAAGAGAAACAATCCCTAGCTG	TCAATCTGTCTAGGAAAGGAAG
VIT_GAPDH	CCACAGACTTCATCGGTGACA	TTCTCGTTGAGGGCTATTCCA

II-3. Extraction d'ARN et RT-PCR

La quantification du niveau de transcrits des différentes isoformes d'aquaporines ayant eu lieu sur les mêmes échantillons que ceux utilisés pour l'étude du métabolisme de l'ABA, toutes les étapes jusqu'à l'obtention des ADNc sont décrites au chapitre 2. Les amorces utilisées en RT-PCR ont été dessinées d'après la littérature (Gambetta et al., 2012) et sont présentées dans le tableau 3.I. La quantification des transcrits a été réalisée grâce à un thermocycleur Biorad CFX96 et l'utilisation de IQ Sybr green Supermix dans un volume final de 10 µL (selon les recommandations du fabricant). Les Ct obtenus ont permis la quantification relative selon la méthode du 2-ΔΔCT (Livak and Schmittgen, 2001) en utilisant la moyenne géométrique des transcrits de références, *Vvi_Actin*, *Vvi_EF1 γ* et *Vvi_GAPDH*. L'efficacité des amorces a été vérifiée en utilisant directement les données de fluorescence par le logiciel LinRegPCR (Ruijter et al., 2009).

II-4. Analyses statistiques

L'effet du génotype a été testé sur les données morphologiques par une ANOVA à un facteur suivi d'un test de Tukey (HSD) pour établir les groupes statistiquement homogènes. Les effets du génotype et de l'application du réactif de Fenton sur les valeurs de conductance et de conductivité hydraulique ont été testés grâce une ANOVA à deux facteurs suivi d'un test de Tukey (HSD) pour chacune des expérimentations séparément. Les effets du génotype et du déficit hydrique (jour 4 par rapport à jour 1 après l'arrêt de l'irrigation) sur le niveau de transcrits des gènes codant les 7 aquaporines dans les tissus racinaires et foliaires ont été étudiés grâce une ANOVA à deux facteurs suivi d'un test de Tukey (HSD). Les « heat map » ont été générées à l'aide du logiciel R v.2.15.3 (R Development Core Team, 2008). Les analyses factorielles discriminantes (AFD), l'analyse en composantes principales (ACP), ainsi que les coefficients de corrélation de Pearson entre les niveaux de transcrits ont été établis à l'aide du logiciel XLStat (Addinsoft SARL., Paris, France). Ce logiciel a également permis de générer les analyses de similarité entre variables, en utilisant la méthode d'assemblage par la moyenne des coefficients de Pearson.

Tableau 3.II- Morphological data collected on the plants used for hydraulic conductance measurements during the experiments 1([a]) and 2([b]). Data are mean ± standard deviation for the 9 studied genotypes. Fresh root biomass, cross section area of the stem, total leaf area and total stem length. P-value of one way ANOVA are presented (n =3-5). Values with different letters are statistically different (Tukey-HSD).

	Root biomass (g)			**Cross section area (mm^2)**			**Leaf area (cm^2)**			**Cumulative stem length (cm)**		
p-value	< 0.0001			< 0.0001			< 0.0001			0.001		
Genotype	Mean	sd		Mean	sd		Mean	sd		Mean	sd	
110R[a]	18.4	6.3	de	3.5	0.6	c	686.7	59.1	d	143.5	16.1	bc
140Ru[a]	17.0	3.3	e	4.8	1.3	bc	885.3	84.5	cd	132.5	23.6	c
Syrah[a]	17.0	2.1	e	5.7	0.8	bc	885.1	68.8	cd	111.7	11.8	c
RGM[b]	52.8	5.3	ab	7.4	1.3	bc	2393.2	828.7	abc	294.2	107.7	abc
101-14Mgt[b]	45.6	12.5	bc	10.1	3.6	b	2359.5	999.2	abc	332.4	132.9	ab
SO4[b]	36.8	9.1	bcd	8.6	1.6	bc	1925.1	798.7	abcd	233.8	96.0	abc
161-49C[b]	31.4	7.1	cde	9.4	1.3	b	1445.8	172.2	bcd	214.5	24.6	abc
41B	28.4	11.1	cde	7.6	1.0	bc	1891.6	1215.7	abcd	269.2	142.6	abc
Syrah[b]	44.0	6.5	bc	10.4	4.5	b	3701.3	767.6	a	391.0	59.6	a
Grenache[b]	68.4	9.3	a	19.7	3.2	a	2845.8	498.2	ab	269.1	66.8	abc

III- Résultats

III-1. Caractéristiques morphologiques des plantes utilisées pour la détermination des propriétés hydrauliques

Les données morphologiques issues des deux expérimentations d'évaluation de la conductivité hydraulique sont présentées dans le tableau 3.II. La biomasse fraiche racinaire, la surface de la section de la tige, la surface foliaire et la longueur cumulée des tiges varient significativement en fonction des génotypes. Pour l'expérimentation 1, les différences génotypiques ne sont pas significatives quel que soit le caractère mesuré. Pour l'expérimentation 2, la biomasse racinaire est significativement plus importante pour les génotypes Grenache et RGM par rapport aux génotypes 161-49C et 41B. La surface de la section de la tige est significativement plus importante pour le Grenache par rapport aux autres génotypes. Pour la surface foliaire, seuls la Syrah et le 161-49C présentent des différences significatives. Pour la longueur cumulée des tiges il n'y a pas de différence entre les génotypes. Dans tous les cas, les valeurs enregistrées au cours de l'expérimentation 1 sont logiquement plus faibles que celles enregistrées pour l'expérimentation 2.

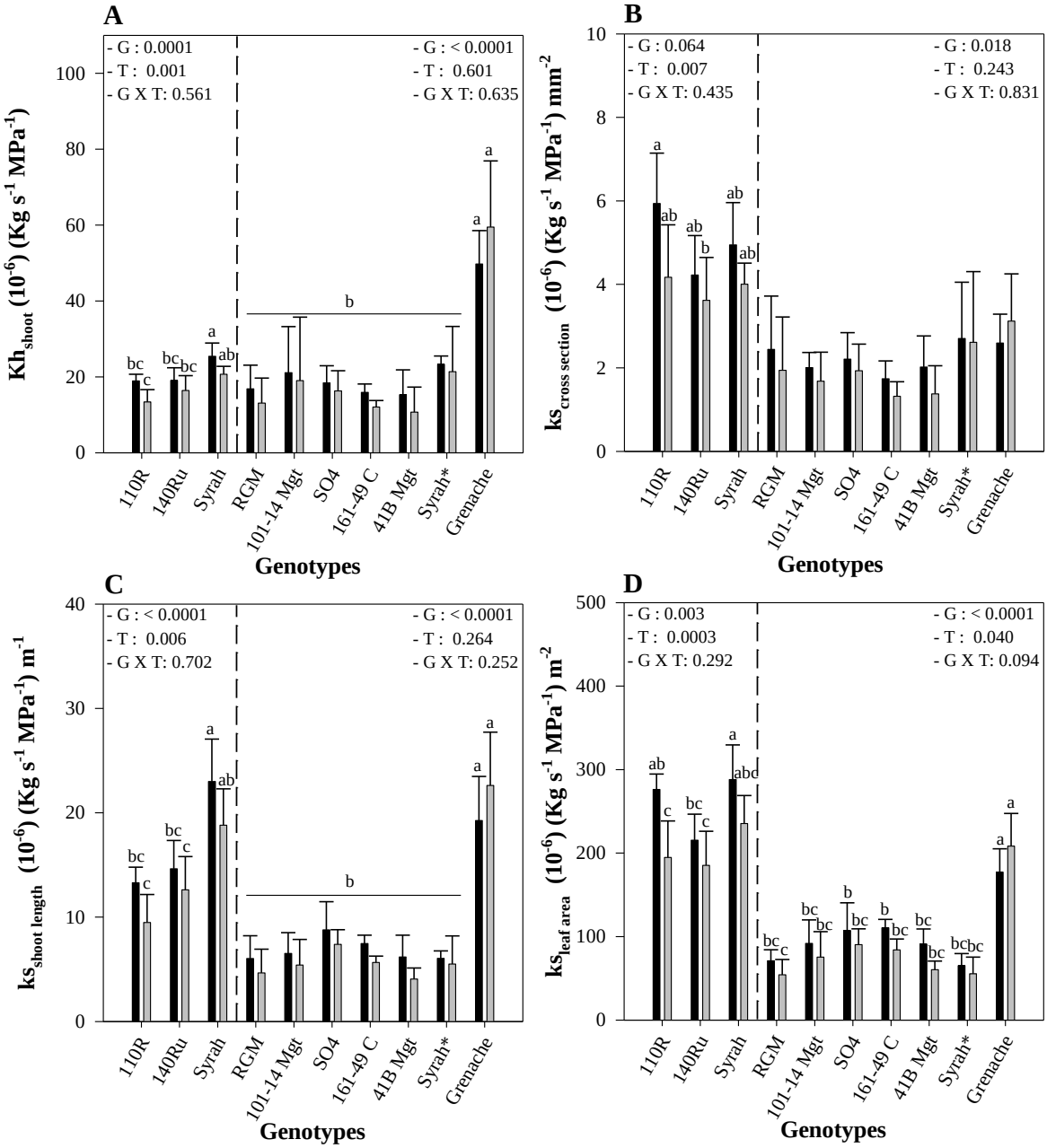


Figure 3.5- Hydraulic conductance and conductivity of stem - Experiments 1 and 2. Hydraulic conductance (A), and hydraulic conductivity per cross section area (B), total stem length (C) and leaf area (D) are presented as histograms for the studied genotypes. Bars represent means and standard deviation before (black bars) and after (grey bars) the application of the Fenton solution. For each panel the dotted line separates the experiments 1 and 2. P-values of two-ways ANOVA (n = 5, n* = 3) are presented for each experiments with G indicated « genotype effect », T « Fenton solution effect » and GxT the interaction effect. Significant differences are indicated by different letters close to the bars. (Tukey HSD)

III-2. Propriétés hydrauliques des différents génotypes

III-2.1. Conductance et conductivité des parties aériennes

Les données de conductance et de conductivité hydraulique des parties aériennes sont présentées pour les deux expérimentations sur la figure 3.5. Pour la Syrah les différences ne sont pas significatives entre les deux expérimentations ($p = 0.39$).

Dans l'expérimentation 1, la conductance des parties aériennes (Kh_{shoot}, Figure 3.5A) est significativement plus élevée chez la Syrah que chez le 110R et le 140Ru. Dans l'expérimentation 2, celle du Grenache est plus deux fois plus importante que celles des autres génotypes. On retrouve les mêmes effets pour la conductivité ($ks_{shoot\ lenght}$, Figure 3.5C) et la conductance spécifique ($Ks_{leaf\ area}$, Figure 3.5D). La conductivité par unité de surface de la section ($ks_{cross\ section}$, Figure 3.5B) ne permet pas de discriminer significativement les génotypes.

L'effet du traitement au réactif de Fenton sur l'hydraulicité des parties aériennes est présenté sur la figure 3.5. Pour l'ensemble des génotypes, à l'exception du Grenache, la perfusion avec le réactif de Fenton a entrainé une diminution de la conductance et des conductivités hydrauliques. Pour l'expérimentation 1, le traitement a eu un effet significatif sur tous les paramètres hydrauliques, alors que pour l'expérimentation 2, l'effet n'est significatif que pour la conductance spécifique ($Ks_{leaf\ area}$).

Pour Kh_{shoot}, le pourcentage d'inhibition est présenté dans le tableau 3.III. Il varie de 14 à 30% au cours de la première expérimentation et de 7 à 32% pour la seconde expérimentation, à l'exception du Grenache pour laquelle on observe une augmentation. L'effet génotype n'est pas significatif sauf pour Grenache.

III-2.2. Conductance et conductivité des parties racinaires

Les données de conductance et de conductivité hydraulique du système racinaire complet sont présentées pour les deux expérimentations sur la figure 3.6. L'effet génotype est significatif pour l'ensemble des paramètres au cours de l'expérimentation 1, et uniquement pour la conductance hydraulique dans l'expérimentation 2. Pour la Syrah les différences ne sont pas significatives entre les deux expérimentations.

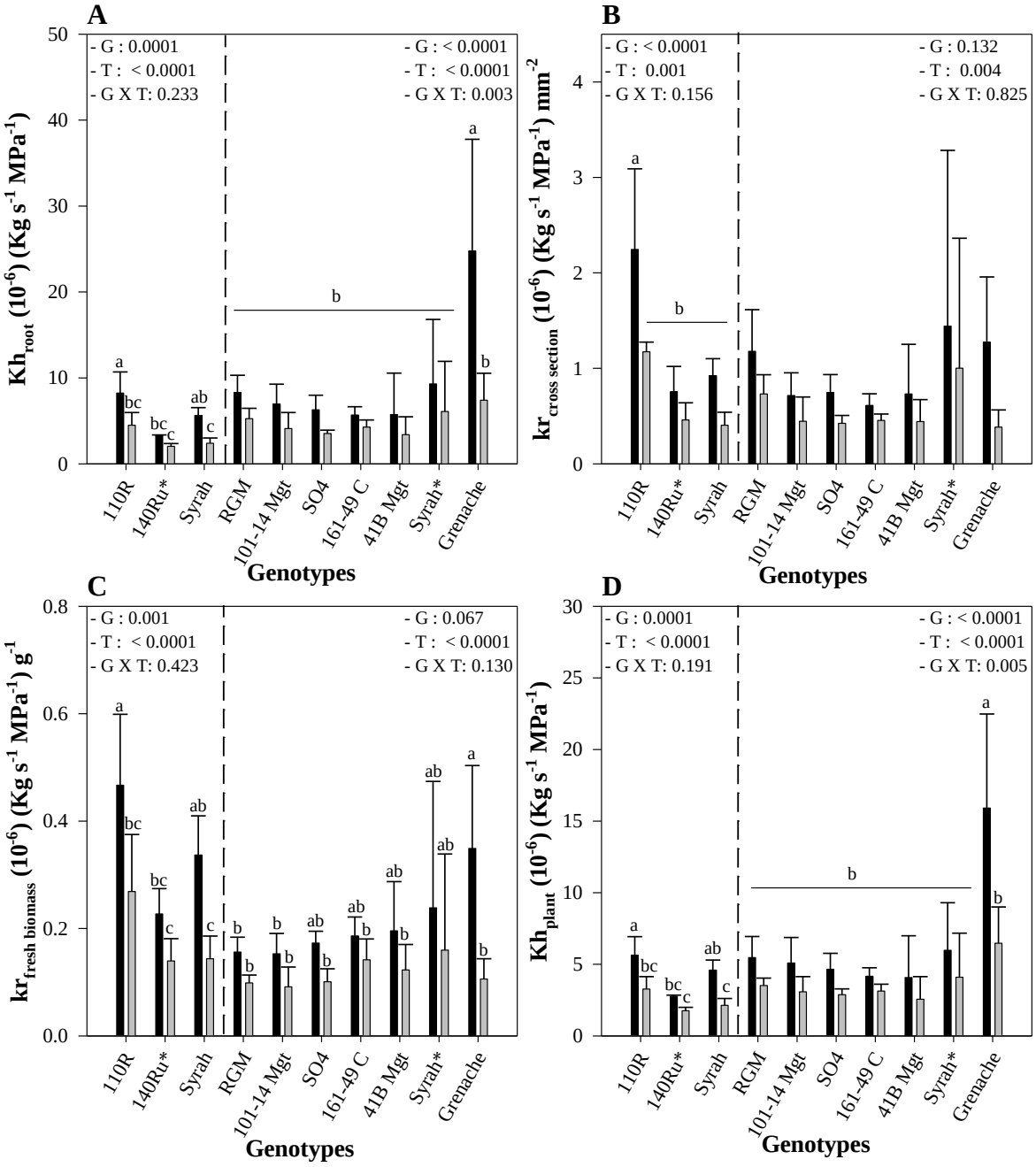


Figure 3.6- Hydraulic parameters of the root system and of the whole plant - Experiments 1 and 2. Hydraulic conductance for the root system (A), hydraulic conductivity per cross section area (B), per fresh root system biomass (C), and hydraulic conductance of the whole plant (D) are presented as histograms for the studied genotypes. Bars represent means and standard deviation before (black bars) and after (grey bars) the application of the Fenton solution. For each panel the dotted line separates the experiments 1 and 2. P-values of two-ways ANOVA (n = 5, n* = 3) are presented for each experiments with G indicated « genotype effect », T « Fenton solution effect » and GxT the interaction effect. Significant differences are indicated by different letters close to the bars. (Tukey HSD).

Pour l'expérimentation 1, la conductance hydraulique racinaire ($Kh_{root,}$ Figure 3.6A), la conductivité par unité de surface de la section ($kr_{cross\ section,}$ Figure 3.6B) et la conductance spécifique par unité de biomasse fraiche racinaire ($kr_{fresh\ biomass}$, Figure 3.6C) sont significativement plus importantes pour le 110R que pour le 140Ru, alors qu'elles sont intermédiaires pour la Syrah. Pour l'expérimentation 2, tout comme pour les parties aériennes, Kh_{root} du Grenache est significativement plus importante que celle des autres génotypes (Figure 3.6A). $kr_{cross\ section}$ ne permet pas de discriminer significativement les génotypes malgré des valeurs plus importantes pour les génotypes RGM, Syrah et Grenache. $kr_{fresh\ biomass}$ est significativement supérieure pour le Grenache en comparaison aux génotypes RGM et 101-14 MGt; les autres génotypes sont intermédiaires.

L'effet du réactif de Fenton sur la conductance hydraulique des parties racinaires est présenté sur la figure 3.6. Pour les deux expérimentations, le traitement a eu un effet inhibiteur significatif sur Kh_{root}, $kr_{cross\ section}$, et $kr_{fresh\ biomass}$, pour l'ensemble des génotypes. Cet effet est significatif pour le génotype 110R sur l'ensemble des données racinaires et pour la Syrah, sur Kh_{root} et $kr_{fresh\ biomass}$ pour l'expérimentation 1. Pour l'expérimentation 2, l'effet de l'inhibiteur n'est significatif que pour le génotype Grenache sur les données de Kh_{root} et $kr_{fresh\ biomass}$. Pour Kh_{root}, le pourcentage d'inhibition est présenté dans le tableau 3.III. Il varie de 38 à 55% au cours de la première expérimentation et de 24 à 67% pour la seconde expérimentation. L'effet génotype sur le pourcentage d'inhibition est significatif seulement au cours de la seconde expérimentation avec le Grenache caractérisé par une inhibition plus importante que les autres génotypes. Au cours de la première expérimentation, la Syrah présente le pourcentage le plus élevé, mais les différences ne sont pas significatives.

III-2.3. Conductance de la plante entière

La conductance hydraulique de la tige est environ deux fois plus élevée que celle des racines.

Les données de conductance hydraulique de la plante entière (Kh_{plant}) sont présentées en figure 3.6D. Pour l'expérimentation 1, Kh_{plant} est significativement supérieure chez le 110R en comparaison avec le 140Ru; la Syrah est intermédiaire. Pour l'expérimentation 2, seul le Grenache présente une Kh_{plant} significativement supérieure aux autres génotypes.

Tableau 3.III : Percentage of inhibition of conductance following Fenton solution application

	Inhibition of Kh_{shoot}		**Inhibition of Kh_{root}**		**Inbibition of Kh_{plant}**	
Genotype	Mean	sd	Mean	sd	Mean	sd
110R	29.31	15.6	43.81	13.2	41.07	11.3
140Ru	14.73	8.2	38.55	10.9	36.30	9.9
Syrah	18.06	6.93	55.47	14.8	51.79	15.1
RGM	24.91	11.9	35.06	14.5	33.95	10.2
101-14 MGt	18.05	19.1	41.31	15.2	38.62	13.3
SO4	12.73	13.2	41.74	10.7	36.93	6.7
161-49C	24.17	5.5	24.43	8.9	24.63	6.5
41B	32.25	13.4	34.51	9.9	34.17	5.8
Syrah	7.36	51.0	37.25	16.6	33.16	20.3
Grenache	-17.90	15.7	67.25	9.9	57.89	9.4

Pour les deux expérimentations, l'ajout de l'inhibiteur d'aquaporines présente un effet significatif. Ainsi la Kh_{plant}, diminue significativement pour les génotypes 110R et Syrah de l'expérimentation 1 et pour le Grenache de l'expérimentation 2. Cet effet n'est pas significatif pour les autres génotypes. Le pourcentage d'inhibition de Kh_{plant} est présenté dans le tableau 3.III. Il reflète les résultats observés sur Kh_{shoot} et Kh_{root}. L'effet génotype est significatif seulement au cours de l'expérimentation 2 avec le Grenache significativement plus élevé que tous les autres génotypes hormis le 101-14MGt.

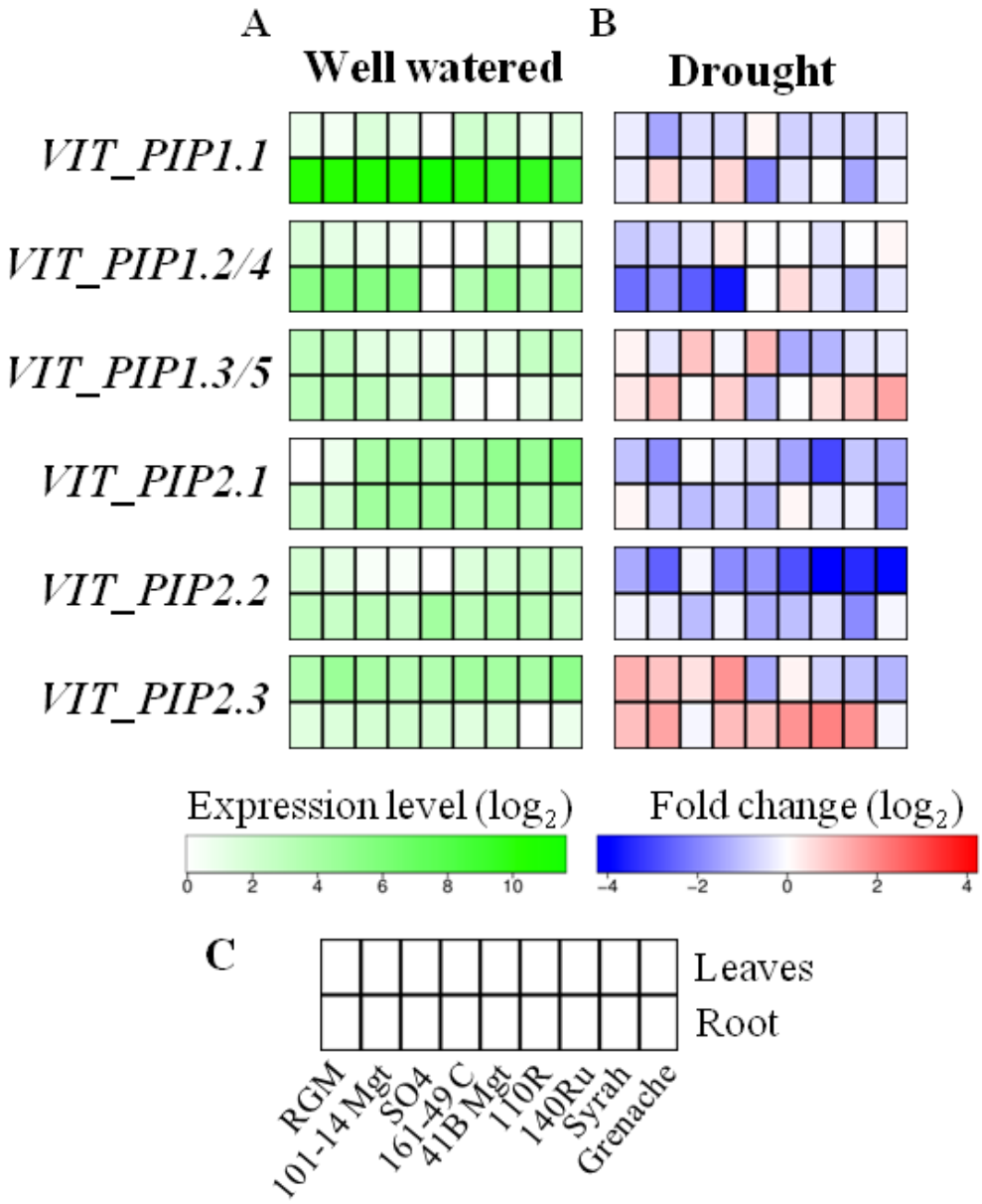


Figure 3.7- Heat maps for transcript abundance of different aquaporin isoforms, 1 day after the last irrigation (A, non-stressed), and the level of expression changes 4 days after the last irrigation (B, water-stressed) for nine grapevine genotypes in the leaves and in root tips (C). Green colors indicate the relative expression relatively to the lowest expression within genotypes and organs (n = 3) for each gene. Blue and red colors indicate the level of expression changes at day 4 relatively to day 1 (n = 3).

III-3. Expression et régulation des différentes isoformes d'aquaporines sous l'effet d'une contrainte hydrique

L'abondance des transcrits pour les gènes codant les différentes isoformes d'aquaporines dans les feuilles et les pointes racinaires un et quatre jours après l'arrêt de l'irrigation des plants est présentée sur la Figure 3.7. Les analyses de variance entre les tissus au jour 1 et pour chaque tissu séparément entre le jour 1 et le jour 4 sont présentées dans les tableaux S3.I-III pour les neuf génotypes étudiés. Dans les deux conditions hydriques et les deux organes étudiés, le niveau d'expression de l'isoforme *VviPIP2.4* a été trop faible pour être détecté en RT-PCR et n'est donc pas présenté. Les coefficients de corrélations de Pearson entre le niveau d'expression des différents transcrits sont présentés dans le tableau S3.IV. Seul l'abondance des transcrits de *VviPIP2.2* dans les feuilles est bien corrélé avec la teneur en eau du substrat SWC (r = 0.64). Par ailleurs, l'expression de *VviPIP1.1* est bien corrélé avec le niveau des transcrits *VviPIP1.3/5* (r = 0.54) et *VviPIP2.3* (r = 0.57) dans les racines. Dans les feuilles, l'expression des gènes *VviPIP1.2/4* et *VviPIP2.2* est corrélée (r = 0.52).

III-3.1. Expression des gènes en situation non contrainte

En l'absence de contrainte hydrique (Figure 3.7A), le niveau d'expression de la majorité des gènes codant des aquaporines varie de manière significative entre les organes et les génotypes étudiés. L'interaction entre les deux facteurs est également significative (Tableau S3.I). Seul le niveau d'expression de *VviPIP1.3/5* ne varie pas entre les feuilles et les racines. L'abondance des transcrits *VviPIP1.1, VviPIP1.2/4 et VviPIP2.2* est d'une manière générale plus importante dans les racines que dans les feuilles alors que l'inverse est observé pour *VviPIP2.1* et *VviPIP2.3*. L'abondance des transcrits *VviPIP1.2/4* et *VviPIP2.1* est très faible par rapport aux autres.

Le niveau de transcrits de *VviPIP1.1* est environ cinq cent fois plus élevé au niveau racinaire qu'au niveau foliaire. Au niveau racinaire il est significativement plus élevé pour le génotype 41B en comparaison des autres génotypes. Parmi les autres génotypes, les niveaux de transcrits sont significativement différents entre le SO4 et le Grenache. Ce dernier est caractérisé par le niveau de transcrits le plus faible.

Le niveau de transcrits de *VviPIP1.2/4* était très faible pour la plupart des génotypes, et n'a pas pu être détecté dans les deux tissus analysés du 41B et dans les feuilles du 110R. Son niveau d'expression est environ dix fois inférieur dans les feuilles par rapport aux racines pour lesquelles on peut différencier statistiquement trois groupes de génotypes. 101-14MGt, SO4 et 161-49C présentent les niveaux de transcrits les plus forts, RGM et 140Ru sont intermédiaires alors que 110R, Syrah et Grenache ont des niveaux significativement plus faibles que le premier groupe.

VviPIP1.3/5 présente en moyenne un niveau de transcrits similaire dans les feuilles et les racines. Malgré une valeur environ trois fois plus faible dans les feuilles des génotypes SO4, 161-49C, 41B, 110R et 140Ru par rapport à celle enregistrée pour les génotypes RGM, 101-14MGt, Syrah et Grenache, la différence n'est significative que pour RGM par rapport aux génotypes 41B, 110R et 140Ru. Au niveau racinaire, le niveau de transcrits est le plus élevé pour les génotypes RGM, 101-14MGt, SO4 et 41B et est le plus faible pour 110R et 140Ru.

VviPIP2.1 est plus exprimé au niveau foliaire qu'au niveau racinaire. Au niveau racinaire, il n'existe pas de différence significative entre les génotypes, alors qu'au niveau foliaire le niveau de transcrits est significativement plus élevé pour Grenache et plus faible pour RGM et 101-14MGt.

VviPIP2.2 est en moyenne plus exprimé dans les racines que dans les feuilles. Les niveaux de transcrits les plus faibles sont observés pour les génotypes SO4, 161-49C et 41B dans les feuilles et les plus forts dans les racines des génotypes 41B et 140Ru.

VviPIP2.3 est en moyenne six fois plus exprimé dans les feuilles que dans les racines où il n'y a pas de différences entre les génotypes. Au niveau foliaire l'expression du gène est plus importante chez Grenache.

III-3.2. Expression des gènes en situation de contrainte hydrique

Le niveau d'induction ou de répression des gènes codant différentes isoformes d'aquaporines en situation de contrainte hydrique est présenté en figure 3.7B pour les différents tissus et génotypes étudiés. L'arrêt de l'irrigation a eu un effet significatif pour l'ensemble des gènes étudiés dans au moins l'un des compartiments, sauf pour *VviPIP1.3/5* dont le niveau de transcrits n'a pas varié que ce soit dans les feuilles ou dans les racines.

VviPIP1.1 a été réprimé de manière significative dans les feuilles, alors que la contrainte hydrique n'a eu aucun effet dans les racines. A l'inverse, le niveau de transcrits de *VviPIP1.2/4* n'a pas varié dans les feuilles, alors qu'il a été réduit dans les racines. En moyenne, il est 6 fois plus faible en situation de contrainte hydrique par rapport à la situation non contrainte pour les génotypes RGM, 101-14MGt, SO4 et 161-49C, mais l'effet n'est significatif que pour le génotype 161-49C dont le niveau de transcrits est pourtant 8 fois plus faible qu'au jour 1.

VviPIP2.1 et *VviPIP2.2* ont été réprimés dans les feuilles et les racines. Pour *VviPIP2.1*, l'effet est significatif pour les génotypes 140Ru et Grenache dans les feuilles. Pour *Vvi*PIP2.2, il est significatif pour RGM, 110R, 140Ru, Syrah et Grenache dans les feuilles.

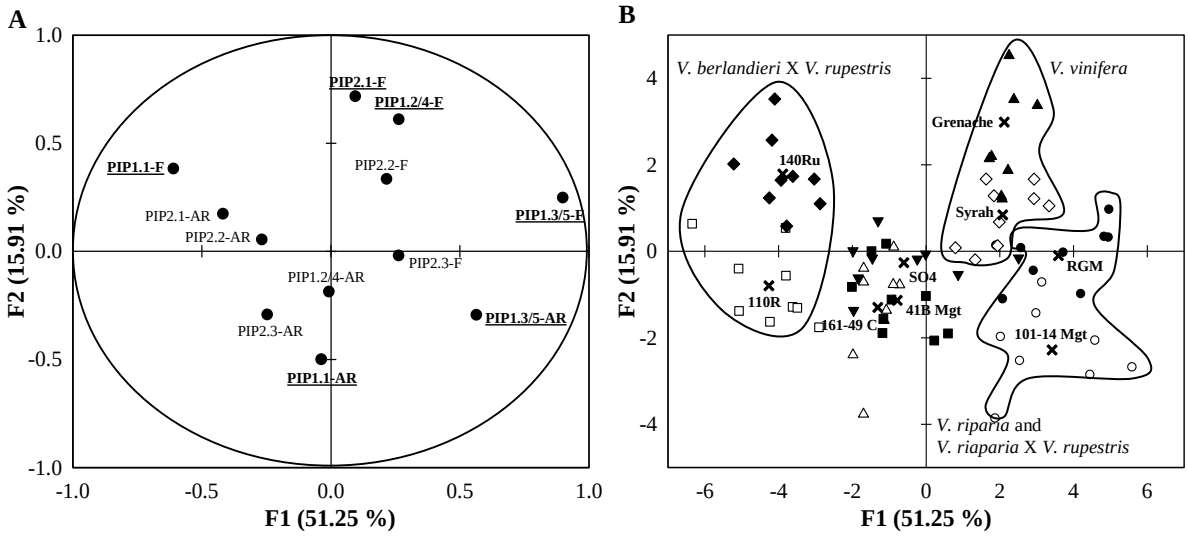


Figure 3.8 –Discriminant function analysis on « Genotype » variable. The analysis was performed on transcript abundance data for genes encoding aquaporin isoforms at day 1, 3 and 4 after withholding irrigation. A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are underlined. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a cross and annotated. Three groups of genotypes have been established and their genetic background is given.

En situation de contrainte hydrique, *VviPIP2.3* a vu son niveau de transcrits dans les feuilles varier de manière différente en fonction des génotypes. En moyenne le niveau de transcrits a été multiplié par 2 pour les génotypes RGM, 101-14MGt, SO4 et 161-49C, alors qu'il a été réduit de moitié pour les génotypes 41B, 140Ru, Syrah et Grenache. Il est resté inchangé pour le génotype 110R. Cependant l'effet n'est significatif que pour le génotype 161-49C. Au niveau racinaire, *VviPIP2.3* a été globalement induit. Cette induction est significative uniquement pour le génotype 140Ru en comparaison avec le Grenache pour lequel le niveau d'expression n'a pas été modifié.

III-3.3. Analyse factorielle discriminante sur les données d'expression des gènes codant différentes aquaporines au cours de l'application de la contrainte hydrique

Le niveau de transcrits des différentes isoformes d'aquaporines enregistré au cours de l'application de la contrainte hydrique a été soumis à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype" (Figure 3.8). Au total 67,16 % de la variabilité est représenté par les axes F1 et F2 (Figure 3.8A). L'axe F1 est expliqué du côté positif par le niveau de transcrits de *VviPIP1.3/5* au niveau des feuilles et des racines et de *VviPIP2.3* au niveau des feuilles et du côté négatif par celui de *VviPIP1.1* dans les feuilles et de *VviPIP2.1* et *VviPIP2.2* dans les racines. L'axe F2 est expliqué du côté positif par le niveau de transcrits de *VviPIP1.2/4*, *VviPIP2.1* et *VviPIP2.2* dans les feuilles et du côté négatif par celui de *VviPIP1.1*, *PIP1.2/4* et *PIP2.3* dans les racines.

La position des individus sur le plan factoriel défini par les axes F1 et F2 permet de discriminer trois groupes selon leur origine génétique (Figure 3.8B). Les génotypes hybrides *V. berlandieri* X *V. ruspestris* se regroupent du côté négatif de l'axe F1 avec dans la partie positive de l'axe F2 le génotype 140Ru et dans la partie négative le génotype 110R. Les génotypes d'origine *V. vinifera* Syrah et Grenache se regroupent dans la partie positive de l'axe F1 et F2. Les génotypes RGM et 101-14MGt, qui sont respectivement un *V. riparia* pur et un hybride *V. riparia* X *V. rupestris*, se regroupent dans la partie positive de l'axe F1 et négative de l'axe F2. Le génotype SO4 est au centre du plan factoriel alors que les génotypes 161-49C et 41B se situent du côté négatif des axes F1 et F2.

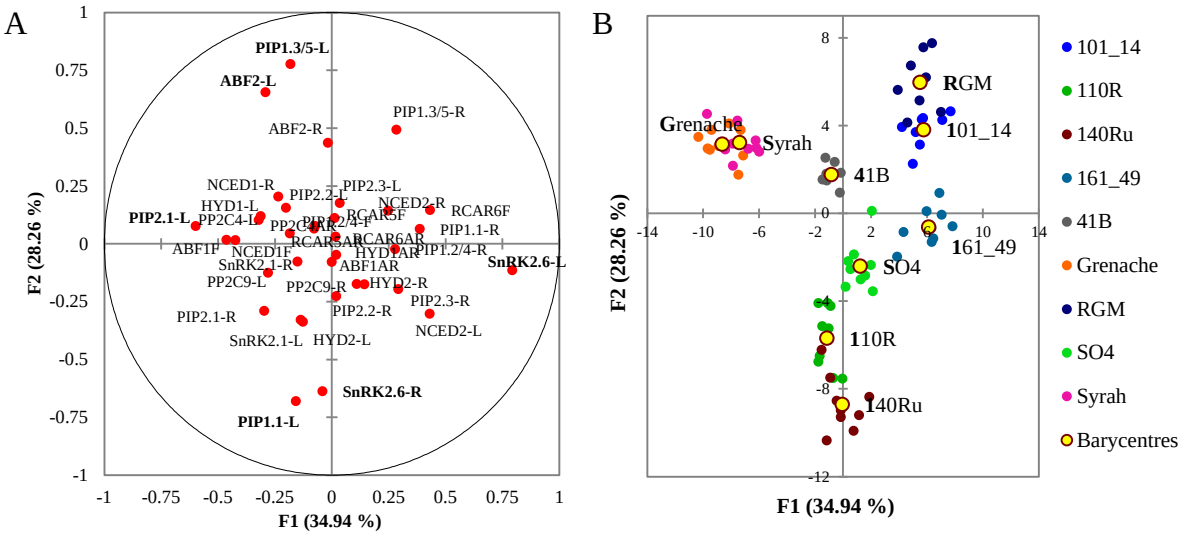


Figure 3.9- Discriminant function analysis on « Genotype » variable. The analysis was performed on transcript abundance data for genes encoding aquaporin isoforms and invoved in ABA metabolism and signal transduction at day 1, 3 and 4 after withholding irrigation in leaves (-L) and in root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is represented by a yellow dot.

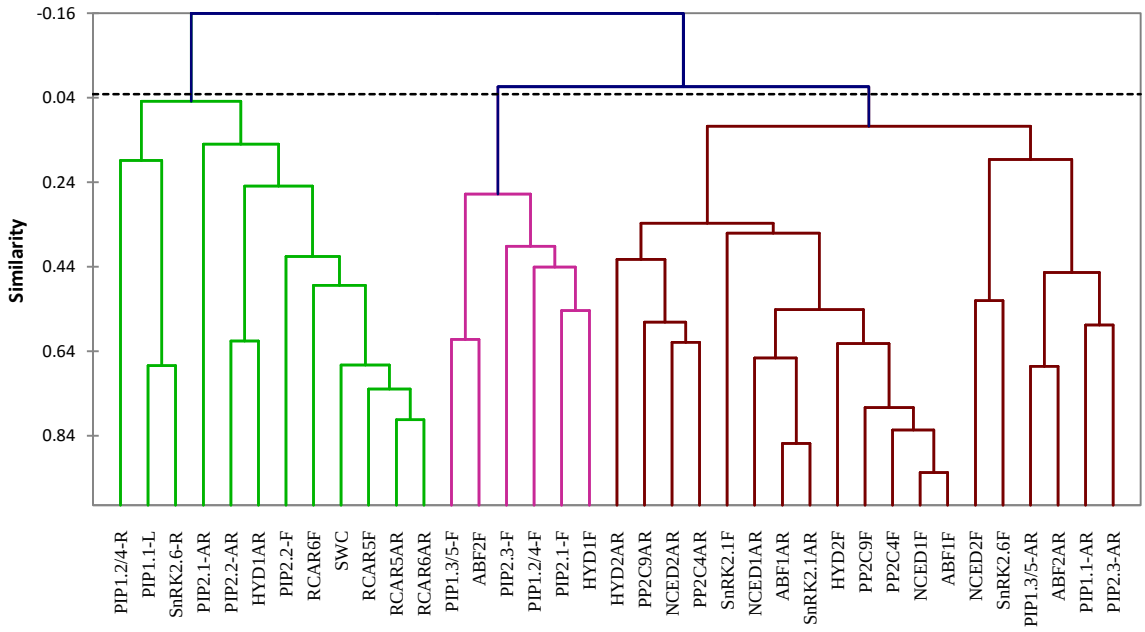


Figure 3.10 : Tree of similarities between variables established from Pearson correlation coefficients.

III-4. Analyse conjointe des données d'expression des gènes codant des aquaporines et ceux impliqués dans le métabolisme et la transduction du signal ABA.

L'ensemble des données d'expression de gènes obtenus lors de l'expérimentation d'arrêt d'irrigation sur boutures a été analysé conjointement par le biais d'une analyse factorielle discriminante sur le facteur « Génotype ». La similarité entre les variables (qui sont les données d'abondance des transcrits) a été établie à partir des coefficients de corrélation de Pearson et représentée sous forme d'un arbre des similarités. Les résultats sont présentés sur les figures 3.9 et 3.10. Au total 63,20 % de la variabilité est représenté par les axes F1 et F2 (Figure 3.9A). L'axe F1 est majoritairement expliqué du côté positif par le niveau de transcrits de *VviSnRK2.6* dans les feuilles et *VviPIP1.1* dans les racines; et du côté négatif par celui de *VviABF1* dans les feuilles et de *VviPIP2.1* dans les feuilles. Le niveau des transcrits *VviABF2* et *VviPIP1.3/5* dans les feuilles contribuent de manière importante et positive à l'axe F2. *VviSnRK2.6* dans les racines et *VviPIP1.1* dans les feuilles y contribuent de manière négative.

La représentation des individus sur le plan défini par F1 et F2 (Figure 3.9B) met en évidence une séparation claire des génotypes étudiés. Du côté négatif de l'axe F1 se regroupent les génotypes Syrah et Grenache d'origine *V. vinifera*. Du côté négatif de l'axe F2, on retrouve les hybrides *V. berlandieri* x *V. ruspestris*. Dans la partie positive des axes F1 et F2 se regroupent les génotypes RGM et 101-14MGt qui sont respectivement un *V. riparia* pur et un hybride *V. riparia* X *V. rupestris.* Les génotypes SO4, 161-49C et 41B se situent entre ces 3 groupes bien séparés. On constate que chaque génotype est mieux séparé des autres que dans les analyses portant uniquement sur les gènes impliqués dans le métabolisme et la transduction du signal ABA (chapitre 2) ou sur les gènes codant des aquaporines (ci-dessus).

Finalement l'analyse de similarité entre variables (Figure 3.10) met en évidence de fortes corrélations (r>0.6) entre l'expression de *VviSnRK2.6* dans les racines et étonnement celle de *VviPIP1.1* dans les feuilles, entre *VviABF2* et *VviPIP1.3/5* au niveau foliaire et racinaire, et aussi entre *VviHYD1* et *VviPIP2.2* dans les racines. L'étude du tableau des corrélations de Pearson (Tableau S3.IV) montre également que l'expression de *VviPIP1.1* dans les feuilles et dans les racines est également bien corrélée à celle de *VviABF2*dans les racines. On retrouve une corrélation croisée feuilles – racines pour *VviRCAR5* et *VviPIP2.2*. L'expression de *VviHYD1* et de *VviPIP2.1* dans les feuilles, ainsi que celle de *VviABF1* et *VviSnRK2.1* avec celle de *VviPIP2.3* dans les racines sont également bien corrélées (p>0.5).

IV-Discussion

Le travail présenté dans ce chapitre a consisté à déterminer certaines caractéristiques hydrauliques des compartiments racinaires et aériens des boutures de 9 génotypes, et évaluer la part de la conductivité associée à l'activité des aquaporines. Dans un second temps, l'expression de 7 gènes codant des aquaporines de type PIP a été étudiée au cours d'une expérimentation d'application d'une contrainte hydrique et les données ont été rapprochées des observations faites au chapitre précédent sur le métabolisme de l'ABA.

VI-1. Les caractéristiques hydrauliques des différents génotypes étudiés

La conductance hydraulique de la totalité du système racinaire et de la partie aérienne de jeunes boutures a été évaluée sur 9 génotypes par la méthode HPFM. L'ordre de grandeur des conductances mesurées dans notre travail est en adéquation avec celles publiées par ailleurs pour ce qui est du compartiment racinaire (Vandeleur et al., 2009 ; Tramontini et al., 2013 ; Barrios-Masias et al., 2015). Cela tend à valider le protocole de mesure utilisé.

Dans chacune des deux expérimentations, le génotype de l'espèce *V. vinifera* est caractérisé par une conductance et de conductivité hydraulique (par unité de longueur) de la tige significativement plus élevée que les autres génotypes. Il n'y a pas de différence significative entre les autres génotypes. Pour les racines, les génotypes 110R et Grenache présentent respectivement une conductance hydraulique et une conductance spécifique (par unité de biomasse fraiche des racines) significativement supérieure en comparaison de la Syrah et du 140Ru au cours de la première expérimentation et en comparaison du RGM et du 101-14MGt lors de la deuxième expérimentation. Nos données confirment la variabilité entre génotypes déjà rapportée par plusieurs auteurs (Peterlunger et al., 1990 ; de Herralde et al., 2006 ; Lovisolo et al., 2008 ; Tyerman et al., 2009 ; Gambetta et al., 2012 ; Tramontini et al., 2013). Cependant en dehors des écarts entre 110R et Grenache d'une part et du RGM et 101-14MGt de l'autre, les différences entre génotypes apparaissent faibles. La contrainte d'avoir réalisé les mesures lors de deux expérimentations distinctes avec un seul génotype répété limite l'intérêt des comparaisons. Même si les méthodes de mesures et l'expression des données de conductance et de conductivité sont très variables d'une publication à l'autre, la conductance hydraulique racinaire élevée enregistrée pour 110R est en adéquation avec les observations réalisées sur d'autres hybrides *V. rupestris x V. berlandieri* (Peterlunger et al., 1990, Lovisolo et al., 2008, Gambetta et al., 2012, Barrios-Marios et al., 2015). Par contre nos résultats ne confirment pas ici la forte conductance décrite pour 140Ru et l'écart important avec SO4, rapportés par Tramontini et al. (2013). Nos observations sur le Grenache confirment également une conductance hydraulique élevée pour ce génotype que ce soit au niveau racinaire ou au niveau aérien. Au niveau aérien, Schultz (2003) a rapporté que la différence se fait principalement au niveau du pétiole.

Les résultats obtenus font ressortir également que la conductivité hydraulique du système racinaire est plus faible que celle de la partie aérienne (Khroot de 20 à 50% de Khshoot). Il y a un effet génotype sur le ratio Khroot/Khshoot seulement dans la première expérimentation avec le 110R caractérisé par un ratio significativement plus élevé que 140Ru et Syrah. La comparaison des données pour la Syrah montre que le ratio a augmenté avec l'âge des plants, éventuellement pour répondre à une demande évaporative plus grande, comme suggéré par Gambetta et al. (2012). Dans notre étude, il y a une corrélation significative entre les paramètres de biomasse et de surface foliaire et les différentes composantes de la conductance hydraulique totale (non présentées). L'ensemble de ces observations confirment que le compartiment racinaire présente une résistance non négligeable au transport de l'eau dans la plante (Steudle et al., 2000) et que cette résistance varie au cours du temps en fonction du développement du système racinaire (Alsina et al., 2011).

IV-2. Part du transport hydrique liée à l'activité des aquaporines

L'utilisation d'inhibiteurs d'aquaporines est largement répandue pour estimer la part du transport de l'eau dépendant des aquaporines. Le chlorure de mercure a été initialement utilisé, mais ses effets toxiques ont conduit à remettre en question les résultats obtenus (Maurel et al., 2015). Des solutions à base de peroxyde d'oxygène se sont montrées aussi efficaces et moins toxiques et sont employées depuis (Henzler et al., 2004, Gambetta et al., 2012). La part du transport lié aux aquaporines est variable d'une espèce à l'autre et des pourcentages d'inhibition supérieurs à 70% ont été rapportés (Li et al., 2014 et références citées).

Dans notre étude, la perfusion des tissus pendant 10 minutes avec le réactif de Fenton a conduit à une réduction de la conductance hydraulique des différentes parties de la plante, sauf pour la partie aérienne du Grenache pour laquelle une augmentation a été observée. Le pourcentage d'inhibition a varié de 7 à 32 % pour les parties aériennes, et de 34 à 67% pour les parties racinaires, ce qui pourrait s'expliquer par une contribution plus faible des aquaporines au contrôle des flux hydriques dans les parties aériennes que dans les racines (Li et al., 2014). Mais ces différences pourraient également être liées à des limites d'ordre méthodologique. Il est possible que la quantité de réactif de Fenton ne soit pas suffisante pour inhiber l'ensemble des aquaporines au niveau aérien. Par ailleurs Benabdellah et al. (2009) ont mis en évidence une augmentation de la conductance hydraulique au niveau des racines de *Phaseolus vulgaris* suite à un traitement avec du peroxyde d'oxygène à différentes concentrations, en lien avec des réponses de type stress oxydatif. L'augmentation de la conductivité hydraulique de la partie aérienne chez le Grenache pourrait éventuellement relever des mêmes processus.

Globalement l'inhibiteur a réduit significativement la conductance hydraulique et la conductance spécifique (unité de poids frais) du compartiment racinaire pour les génotypes 110R, Syrah et Grenache, ainsi que la conductance spécifique (unité de surface foliaire) du compartiment aérien pour le 110R. Les pourcentages d'inhibition estimés dans ce travail sont conformes à ceux rapportés dans la littérature pour le compartiment racinaire chez la vigne (Lovisolo et al., 2008 ; Gambetta et al., 2012, Tramontini et al., 2013). Nous avons mis en évidence peu de différences significatives entre génotypes. Les représentants de l'espèce *V.vinifera* (considérés comme très tolérants à la sécheresse, cf chapitre 2) et le 110R un hybride *V. rupestris* x *V berlandieri* (classé comme très tolérant), sont caractérisés par des pourcentages d'inhibition plus élevés, ce qui pourrait suggérer une plus grande part du transport de l'eau sous contrôle métabolique chez les génotypes (Lovisolo et al., 2008). Mais nos résultats ne confirment pas cette hypothèse de manière générale, puisque dans notre étude le 140Ru, un autre hybride *V. rupestris* x *V berlandieri* également très tolérant, ne se distingue pas des autres génotypes, contrairement à ce qui est rapporté par Lovisolo et al. (2008) et Tramontini et al. (2013).

IV-3. Profil d'expression des aquaporines en conditions non contraintes

Etant donné le lien entre l'activité des aquaporines et les propriétés hydrauliques des tissus chez les végétaux (Maurel et al., 2010), nous avons étudié l'abondance des transcrits pour 7 gènes codant des aquaporines de type PIP1 et PIP2 dans les racines et les feuilles de 9 génotypes. Les gènes choisis étaient ceux précédemment définis par Gambetta et al. (2012) et étudiés pour différents porte-greffes de vigne.

Parmi les gènes codant des aquaporines chez la vigne, 6 ont été identifiés comme de type PIP1 et 5 de type PIP2 (Shelden et al. 2009). Etant donné le fort pourcentage d'homologie entre les différentes formes d'aquaporines, les amorces ont été définies conformément à Gambetta et al. (2012), afin d'amplifier toutes les séquences de variants alléliques très proches. C'est particulièrement le cas pour PIP1-2 et PIP1-4 qui sont identiques à 98% au niveau de l'ADN, et PIP1-3 et PIP1-5 qui sont identiques à 96%. Ainsi les données d'expression présentées dans ce travail seront décrites comme celles de PIP1-2/4 et PIP3/5. Il a été montré par expression dans des ovocytes de xénope que parmi ces deux groupes chez la vigne, les aquaporines de type PIP1 n'avaient pas d'activité de transport de l'eau, contrairement aux aquaporines de type PIP2 (Chaumont et al., 2000, Shelden et al., 2009, Tyerman et al., 2009).

Parmi les aquaporines étudiées, *VviPIP2-4* est considérée comme spécifique des racines et le gène de la catégorie des PIP2 le plus exprimé dans les racines (Perrone et al., 2012). Nos travaux n'ont pas permis de détecter une expression significative pour ce gène, que ce soit dans les racines ou dans les feuilles. Une forte expression a été rapportée par Gambetta et al. (2012) dans les pointes et les parties matures des racines de vigne cultivées en terre, mais pas en hydroponie. Son expression a également été détectée dans les cellules associées aux vaisseaux du xylème dans le pétiole du cépage Grenache, mais pas sur le pétiole entier (Chittara et al. 2014). Nos conditions de culture (sable et solution nutritive), le fait de travailler à l'échelle de la feuille, mais aussi les variations journalières de l'expression des aquaporines (Takase et al., 2011; Vandeleur et al., 2009) peuvent expliquer l'absence d'expression dans notre étude. En effet les prélèvements ont été réalisés en fin de période nocturne.

Dans notre étude, ce sont les gènes *VviPIP1.1*, *VviPIP1.3/5*, *VviPIP2.2* et *VviPIP2.3* qui sont les plus exprimés, quel que soit le tissu étudié. *VviPIP1.1*, *VviPIP1.2/4* et *VviPIP2.2* sont significativement plus exprimés dans les racines avec un rapport d'expression allant jusqu'à 500 pour *VviPIP1.1*. *VviPIP2.1* et *VviPIP2.3* sont significativement plus exprimés dans les feuilles, avec un rapport d'expression de 6 pour *VviPIP2.3*. *VivPIP1.3/5* est exprimé de manière homogène dans les feuilles et les racines. Ces données, qui mettent en évidence une expression tissu-spécifique en fonction des aquaporines, sont en accord avec les précédents travaux conduits sur la vigne (Galmès et al., 2007 ; Vandeleur et al., 2009; Gambetta et al., 2012) et sur d'autres espèces (Chaumont et Tyermann, 2014). Dans les racines, une variabilité d'expression a été mise en évidence radialement et longitudinalement (Gambetta et al., 2013). Il en est de même dans les feuilles entre le limbe, le pétiole et les cellules associées aux vaisseaux (Chittara et al., 2014).

Nos travaux confirment des effets génotypes sur le niveau d'expression des différentes formes d'aquaporines, et ce en fonction des tissus analysés. Pour les gènes *VviPIP1.1* et *VviPIP2.2* qui sont très fortement exprimés dans les racines, 41B a de manière répétée le niveau de transcrits le plus élevé et Grenache le plus faible. 140Ru présente un niveau d'expression de *VviPIP1.1* parmi les plus faibles et *VviPIP2.2* parmi les plus élevés. Au niveau foliaire, Grenache présente le niveau de transcrits le plus élevé pour *VviPIP2.1* et *VviPIP2.3*. Pour *VviPIP1.3/5*, on observe un niveau d'expression significativement plus élevé pour RGM et 101-14MGt et plus faible pour 110R et 140Ru. En matière d'expression d'aquaporines, Grenache parait présenter une nouvelle fois des spécificités avec une forte expression des gènes plus spécifiques aux feuilles et une faible expression des gènes plus spécifiques aux racines. Comme rapporté par Gambetta et al. (2012), l'expression de *VviPIP2.2* dans les racines parait plus élevée chez les génotypes de porte-greffes connus pour induire une vigueur végétative élevée au greffon tels que 41B, SO4, 110R et 140Ru. Par contre il ne semble pas possible d'établir de lien entre le niveau d'expression des aquaporines pour les différents génotypes et les caractéristiques hydrauliques (conductance et conductivité) évaluées séparément.

IV-4. Profils d'expression en conditions de contrainte hydrique

Dans les feuilles, le niveau de transcrits des gènes *VviPIP1.1*, *VviPIP2.1* et *VviPIP2.2* est significativement réduit par la contrainte hydrique dans les feuilles. Pour *VviPIP1.1*, la répression est surtout marquée pour 101-14MGt. Pour *VviPIP2.1*, l'inhibition est surtout marquée pour 140Ru et à un moindre niveau pour 110R, Grenache et 101-14MGt. Pour *VviPIP2.2*, le pourcentage d'inhibition est le plus élevé pour 140Ru, Grenache ; Syrah, 110R et 101-14MGt. Le niveau d'expression de ce gène dans les feuilles est bien corrélé (RPearson = 0.64) à la teneur en eau du sol (SWC) et ces génotypes sont effectivement caractérisés par le potentiel hydrique le plus négatif au moment du prélèvement (chapitre 2, figure 2.1A). Pour *VviPIP2.3*, il y a une très forte interaction génotype – contrainte hydrique, avec une induction pour les génotypes RGM, 101-14MGt, SO4 et 161-49C, et une inhibition pour 41B, 140Ru, Syrah et Grenache, 110R n'étant pas significativement affecté.

Plusieurs études conduites chez la vigne (Pou et al., 2012, Galmès et al., 2007 ; Chitarra et al., 2012 Zarrouk et al., 2015) permettent d'émettre l'hypothèse que l'expression de ces gènes peut être induite dans les feuilles de manière momentanée quand le niveau de contrainte est limité, mais qu'elle est réprimée quand la contrainte est maintenue pendant plusieurs jours ou de forte intensité (faible potentiel hydrique).

Dans les racines, le niveau de transcrits de *VviPIP1.2/4*, *VviPIP2.1*, *VviPIP2.2* est significativement réduit en situation de contrainte hydrique, alors que l'expression de *VviPIP2.3* est induite et que celle de *VviPIP1.1* et *VvPIP1.3/5* n'est pas affectée significativement. Pour *VviPIP1.2/4*, les porte-greffes 161-49, RGM, 101-14MGt et SO4 sont parmi les plus affectés. Pour *VviPIP2.1* et *2.2*, les différences entre génotypes sont peu marquées. Pour *VviPIP2.3*, l'induction est plus marquée pour 140Ru, et de manière secondaire 110R et Syrah.

Les résultats rapportés dans la littérature (Galmès et al. 2007, Vandeleur et al., 2009 ; Perrone et al., 2012, Zarrouk et al., 2015) sont très variables et ne permettent pas de dégager des tendances régulières quant à l'inhibition ou l'induction de telle ou telle aquaporine dans les racines en conditions de contrainte. Comme dans le cas des feuilles, cela peut dépendre de l'intensité et de la nature de la contrainte hydrique appliquée, mais aussi de l'heure des prélèvements puisque l'activité de certaines aquaporines comme *VviPIP1.1* est variable au cours de la journée (Vandeleur et al., 2009).

Beaucoup de travaux font état d'une inhibition de l'activité des aquaporines et du transport de l'eau en situation de contrainte hydrique (références citées par Maurel et al., 2015), alors que d'autres rapportent la tendance opposée (Beaudette et al., 2007 ; Hachez et al., 2012). Dans notre étude, les aquaporines les plus exprimées dans les racines et les feuilles sont significativement réprimées ou non affectées, et *VviPIP2.3* plus faiblement exprimée est induite dans les racines et dans les feuilles de certains génotypes. Ceci traduit une certaine réaction de la plante pour moduler le transfert d'eau via la voie intracellulaire afin de maintenir l'homéostasie de l'eau en conditions de contrainte (Galmès et al., 2007), avec une coordination entre racines et feuilles. Il est possible que différentes stratégies soient mises en œuvre en réponse au dessèchement du sol avec une augmentation de la conductance hydraulique racinaire dans les phases précoces du dessèchement pour optimiser l'absorption de l'eau, mais à long terme, une inhibition empêche le flux inverse des racines vers le sol. Toutes les aquaporines ne seraient pas sensibles au même niveau de contrainte hydrique.

De la même manière que nous l'avons rapporté au chapitre précédent pour l'ABA, l'analyse factorielle discriminante conduite sur les données d'expression des gènes codant des aquaporines de type PIP montre également que des groupes de génotypes peuvent être établis en fonction de leur origine génétique. On retrouve le groupe des *V. vinifera*, associé au côté positif à l'axe F1, expliqué par une forte abondance des transcrits *VviPIP1.3/5* dans les feuilles et dans les racines, et l'axe F2, expliqué par une forte abondance des transcrits *VViPIP2.1* et *VviPIP1.2/4* dans les feuilles, et une faible abondance de *VviPIP1.1* dans les racines. On retrouve également le groupe des hybrides *V.rupestris* x *V. berlandieri*, associé au côté négatif de l'axe F1 avec une forte expression des transcrits *VvPIP1.1* dans les feuilles et à un moindre degré de *VviPIP2.1* et *2.2* dans les racines. Il est intéressant de noter que dans ce groupe, les 2 génotypes se distribuent selon l'axe F2 avec 140Ru du côté positif (comme les *V. vinifera,* forte abondance des transcrits *VViPIP2.1* et *VviPIP1.2/4* dans les feuilles) et 110R du côté négatif (plus forte abondance *VviPIP1.1* dans les racines). Finalement on peut établir un troisième groupe de génotypes avec RGM et 101-14MGt (un hybride *V. riparia* x *V. rupestris*) associé au côté positif de l'axe F1 (forte abondance des transcrits VviPIP1.3/5 dans les feuilles et dans les racines) et au côté négatif de l'axe F2 (plus forte abondance VviPIP1.1 dans les racines). On constate finalement que ces 3 groupes se distinguent surtout le long de l'axe F1 (plutôt expliqué par l'expression de gènes au niveau foliaire) et que la variabilité intra-groupe se distribue selon l'axe F2 (plutôt expliqué par une opposition entre expression foliaire de différentes aquaporines et expression racinaire de *VviPIP1.1*).

La conductance hydraulique et la conductivité (par unité de longueur) de la partie aérienne pour le Grenache et la Syrah mises en évidence dans la première partie de ce chapitre pourraient être associées à une forte expression de *VviPIP2.1* et *VviPIP1.2/4* dans les feuilles, conformément aux observations de Pou et al. (2012). Par contre aucune hypothèse ne peut être avancée concernant la conductance hydraulique racinaire élevée pour 110R et Grenache. Le niveau de transcrits de *VviPIP1.1* ne donne aucune tendance cohérente entre ces 2 génotypes. Par ailleurs Grenache est caractérisé au niveau racinaire par une forte conductance hydraulique, le pourcentage le plus élevé de transport par voie intracellulaire, mais le plus faible niveau de transcrits pour les gènes *VviPIP1.1* et *VviPIP2.2* en situation non contrainte.

IV-5. Aquaporines et signalisation ABA

L'analyse de l'ensemble des données d'expression des gènes recueillies au cours de l'expérimentation d'arrêt de l'irrigation sur des boutures de 9 génotypes a permis de rechercher les liens entre les réponses associées à l'hydraulicité du système et au signal ABA.

L'analyse factorielle discriminante, l'étude du tableau des coefficients de corrélation de Pearson, ainsi que l'analyse de la similarité entre variables permet de faire ressortir 3 conclusions majeures de cette expérimentation:

1- Parmi les gènes codant des aquaporines et ceux associés au métabolisme (biosynthèse/dégradation) de l'ABA, on retrouve des corrélations seulement entre l'expression de *VviPIP2.1* et *VviNCED1* dans les feuilles d'une part et celle des aquaporines de type PIP2 et *VviHYD1* dans les racines et dans les feuilles d'autre part ;

2- Une corrélation peut être établie entre l'expression de plusieurs aquaporines dont *VviPIP1.1*, *VviPIP1.3/5* et *VviPIP2.3* et celle de gènes de la voie de transduction du signal tels que *VviABF1* et 2, *SnRK2.1* au sein d'un même organe ;

3- Une forte similarité (ou corrélation) entre l'expression de *VviPIP1.1* et *VviSnRK2.6*, ainsi que celle de *VviPIP2.2* et *VviRCAR5*, mais de manière croisée entre feuilles et racines.

L'ABA intervient dans la régulation des flux hydriques dans la plante et le fonctionnement des aquaporines. En utilisant soit des applications externes d'ABA, soit les capacités de synthèse variables de plantes transgéniques, il a été montré que l'expression des aquaporines et la conductivité hydraulique des différents tissus de la plante peuvent être modifiées, avec des effets variables en fonction des tissus analysés et des espèces étudiées (Dodd, 2013 ; Maurel et al., 2015).

Peu de travaux sont relatifs à l'étude en parallèle de l'ensemble de la voie du métabolisme/transduction du signal ABA et de l'expression de plusieurs aquaporines à la fois dans les racines et dans les feuilles en conditions de contrainte hydrique.

Il a été montré que l'ABA peut augmenter de manière transitoire la conductivité hydraulique des racines (Hose et al., 2000 ; Thompson et al., 2007) ainsi que l'expression de certaines aquaporines dans ces tissus (Aroca et al., 2006 ; Parent et al., 2009). Mais l'absence d'effet de l'ABA sur la conductivité racinaire a été aussi rapporté chez *Populus tremuloides* Michx (Wan et Zwiazek, 2001) et des effets variables sur l'expression d'aquaporines ont été mis en évidence chez *Pisum sativum* en fonction de la concentration en ABA appliquée (Beaudette et al., 2007). A l'inverse il apparait que l'ABA réduit la conductivité hydraulique au niveau des feuilles en réprimant l'expression des aquaporines dans les cellules associées aux vaisseaux (Shatil-Cohen et al., 2011 ; Pantin et al., 2013) et leur activité via la phosphorylation de résidus Sérine (Kline et al., 2010). Pourtant l'induction de l'expression de certaines aquaporines foliaires a été rapportée chez Arabidopsis en situation de déficit hydrique (Alexandersson et al., 2005). Dodd (2013) suggère que ces effets variables pourraient être associés à la concentration en ABA, l'inhibition de la conductivité hydraulique étant marquée surtout à des concentrations élevées.

Nos travaux montrent que la contrainte hydrique, qui s'accompagne d'une augmentation de la teneur en ABA dans la sève xylémienne d'origine racinaire ou aérienne (cf chapitre 2), a des effets variables sur l'expression des différentes aquaporines étudiées. En effet elle n'agit pas sur l'expression de *VviPIP1.1* dans les racines, de *VviPIP1.2/4* dans les feuilles et *VviPIP1.3/5* dans les 2 tissus étudiés. Elle s'accompagne d'une répression de l'ensemble des autres gènes dans les deux tissus, sauf pour *VviPIP2.3* qui est induite dans les racines et induite ou réprimée en fonction des génotypes dans les feuilles. Nos résultats confirment la variabilité de réponse rapportée par ailleurs au niveau des racines et des feuilles. Dans notre cas, la variabilité peut être liée à l'aquaporine considérée ou au génotype considéré. L'absence d'induction des aquaporines racinaires pourrait être associée aux fortes concentrations en ABA constatées dans notre étude, comme suggéré par Beaudette et al. (2007). Par ailleurs dans les feuilles, une certaine corrélation entre l'expression des gènes associés à la synthèse et au catabolisme de l'ABA et celle des différentes aquaporines a été obtenue. Ce qui suggère un lien entre synthèse de l'ABA et expression de certaines aquaporines comme l'observent Parent et al. (2009) avec des plants de maïs transgéniques sur-exprimant le gène *NCED* et observé également par Perrone et al. (2012) avec des vignes transgéniques sur exprimant le gène *VviPIP2.4*.

Notre étude met en évidence des corrélations significatives au sein d'un même tissu entre l'expression de gènes codant certaines aquaporines et celles des gènes codant des protéines impliquées dans les dernières étapes de la voie de transduction du signal ABA, telles que SnRK2.1 et les facteurs de transcription de type ABF, illustrant le rôle du signal ABA sur la régulation des flux hydriques au niveau tissulaire via la régulation des aquaporines au niveau transcriptionnel (Finkelstein, 2013) et niveau post-traductionnel via les processus de phosphorylation-déphosphorylation médiés par l'ABA (Kline et al., 2010, Grondin et al., 2015).

Notre étude met également en évidence des corrélations étroites entre l'expression de gènes codant des aquaporines dans les racines ou les feuilles et celle de gènes codant des protéines impliquées dans la voie de transduction du signal ABA dans le tissu opposé. Une corrélation n'implique pas de lien de cause à effet direct entre les deux cibles. Elle pourrait signifier que l'expression des 2 gènes est contrôlée de manière étroite par le même signal chimique et hydraulique qui circule entre les 2 compartiments, soulignant une nouvelle fois l'interaction forte entre les 2 types de signaux (Dodd, 2013). Il faut aussi rappeler que l'expression de *VviPIP1.1* et *VviSnRK2.6* dans les racines n'est pas affectée par la contrainte hydrique, mais est marquée par un fort effet génotype, alors que ces 2 gènes dans les feuilles répondent à l'effet de la contrainte hydrique. Il est donc possible que des différences constitutives entre génotypes au niveau racinaire induisent des réponses variables au niveau foliaire.

Le classement issu de l'analyse factorielle discriminante de l'ensemble des niveaux de transcrits pour les gènes codant des aquaporines et pour ceux impliqués dans le métabolisme et la transduction du signal ABA permet une amélioration du classement des génotypes selon leur origine génétique par rapport à celui établi au chapitre 2. Les individus apparaissent très groupés autour de leur barycentre par génotype, et tous les génotypes apparaissent séparés les uns des autres. Leur positionnement relatif illustre bien leur origine génétique. Le positionnement des génotypes *V. vinifera* est bien expliqué par l'expression des gènes au niveau des feuilles, surtout *VviPIP2.1* et *VviNCED1*, *VviHYD1* et différents gènes de la voie de transduction du signal (*VviABF1*). Le positionnement des génotypes du groupe des hybrides *V. rupestris* x *V. berlandieri* est bien expliqué par la corrélation croisée entre *VviPIP1.1* dans les feuilles et *VviSnRK2.6* dans les racines. Le positionnement du groupe Riparia avec RGM et 101-14MGt (hybride *V. riparia* x *V. rupestris*) sont expliqués par la corrélation entre *VviPIP1.3/5* et *VviABF2* dans les racines et la corrélation croisée *VviPIP1.1* racines et *VviSnRK2.6* feuilles. Finalement les 3 autres génotypes se positionnent entre ces 3 groupes : le 41B (*V. berlandieri x V. vinifera*) près du groupe des *V. vinifera*, le SO4 et 161-49C (hybrides *V. riparia* x *V. berlandieri*) entre les groupes Riparia et des hybrides *V. rupestris x V. berlandieri*.

Des hypothèses concernant des stratégies variables en fonction des génotypes de réponse à la contrainte hydrique peuvent être établies à partir de ces résultats. Au sein de l'espèce *V. vinifera*, la réponse serait majoritairement coordonnée au niveau des feuilles. Chez les *Vitis* américains et leurs hybrides, la coordination racines-partie aérienne et régulation ABA-hydraulicité du système via un signal à distance pourrait plus influencer la réponse.

V- Conclusions

Notre étude fait ressortir des différences de propriétés hydrauliques entre génotypes que ce soit au niveau aérien ou racinaire. Les génotypes Grenache, Syrah et 110R ressortent comme ayant des capacités de transfert de l'eau plus importantes par rapport aux autres génotypes étudiés. Le système racinaire contribue à moins de la moitié de la conductance hydraulique totale. Une part non-négligeable de la capacité de transport de l'eau est associée à l'activité des aquaporines, et cette part est plus importante au niveau racinaire que dans la tige. L'étude de l'expression de 7 gènes codant pour les aquaporines de type PIP1 et 2 dans les racines et dans les feuilles a permis de confirmer une expression différentielle en fonction des tissus et des différences entre génotypes. Cependant ces différences sont difficilement associables aux propriétés hydrauliques évaluées par ailleurs sur les mêmes génotypes, certainement en raison des processus de régulation post-transcriptionnelle et post-traductionnelle que nous n'avons pas étudiés. La contrainte hydrique a des conséquences variables sur l'expression des différents gènes codant pour les aquaporines. La plupart sont réprimés ou non affectés, seul *VviPIP2.3* est induit dans les racines et dans les feuilles pour certains génotypes. L'analyse conjointe des données d'expression des gènes codant des aquaporines et des protéines impliquées dans le métabolisme et la transduction du signal ABA permet d'établir une classification poussée des génotypes en fonction de leur origine génétique et de leur sensibilité à la sécheresse. Nos résultats suggèrent une forte intégration des processus au niveau foliaire (pour la régulation des flux hydriques en situation de contrainte hydrique) pour les génotypes de *V. vinifera*, alors qu'une coordination partie aérienne / partie racinaire apparait chez les hybrides interspécifiques de *Vitis.*

VI- Données supplémentaires

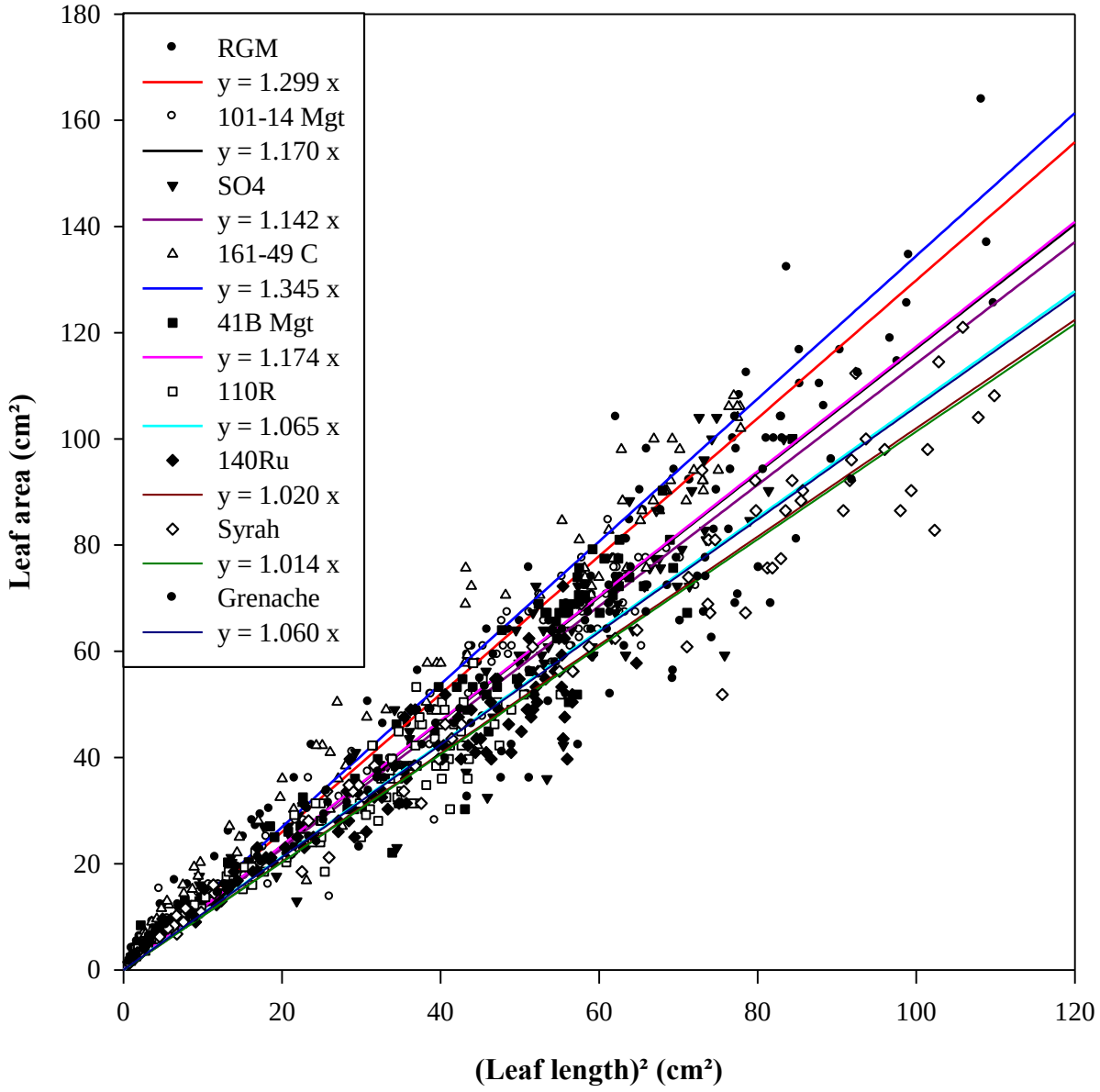


Figure S3.1- Linear regression of leaf area by scare of leaf length for each genotypes (n = 72 - 110, p < 0.001, R^2 = 0.91-0.97). Symbol legends and equation is shown in figure.

Tableau S3.I- The transcript abundance of 6 *VviPIPs* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied at day 1. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Tissue, genotype and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each genes, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		VvPIP1.1	*VvPIP1.2/4*	*VvPIP1.3/5*	*VvPIP2.1*	*VvPIP2.2*	*VvPIP2.3*
p-value ANOVA	Genotype	< 0.0001	0.009	< 0.0001	< 0.0001	0.024	< 0.0001
	Tissue	< 0.0001	< 0.0001	0.192	0.002	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	< 0.0001	0.040	< 0.0001	< 0.0001	0.002	< 0.0001

		VvPIP1.1		*VvPIP1.2/4*		*VvPIP1.3/5*		*VvPIP2.1*		*VvPIP2.2*		*VvPIP2.3*	
Tissue	Leaves	0.005	b	2.14E-06	b	0.869	a	0.067	a	0.944	b	0.668	a
	Root tips	2.503	a	2.76E-05	a	0.989	a	0.045	b	2.788	a	0.111	b
Genotype	RGM	1.313	b	2.99E-05	a	1.629	a	0.008	d	1.679	ab	0.264	c
	101-14 Mgt	1.255	b	2.35E-05	ab	1.625	ab	0.009	cd	1.208	ab	0.514	ab
	SO4	1.619	ab	2.26E-05	ab	1.129	abc	0.051	bc	1.496	ab	0.363	bc
	161-49 C	1.211	b	3.24E-05	a	0.614	cd	0.062	b	1.057	b	0.271	c
	41B Mgt	3.201	a	nd	-	0.964	bcd	0.044	bcd	2.958	a	0.285	c
	110R	1.030	b	1.03E-05	ab	0.349	d	0.046	bcd	1.787	ab	0.404	bc
	140Ru	0.680	b	1.23E-05	ab	0.317	d	0.073	b	2.428	ab	0.396	bc
	Syrah	0.749	b	5.71E-06	b	0.937	bcd	0.057	b	2.368	ab	0.329	bc
	Grenache	0.230	b	7.06E-06	b	1.032	abc	0.135	a	1.592	ab	0.724	a

Interaction		*VvPIP1.1*		*VvPIP1.2/4*		*VvPIP1.3/5*		*VvPIP2.1*		*VvPIP2.2*		*VvPIP2.3*	
Leaves	RGM	0.004	d	3.01E-06	bc	1.510	ab	0.003	d	1.150	bc	0.424	cde
	101-14 Mgt	0.003	d	2.18E-06	c	1.469	abc	0.005	cd	0.688	bc	0.911	b
	SO4	0.007	d	1.64E-06	c	0.542	bcd	0.042	bcd	0.392	c	0.576	bcd
	161-49 C	0.004	d	1.39E-06	c	0.499	bcd	0.060	bcd	0.379	c	0.377	def
	41B Mgt	0.002	d	nd	-	0.306	cd	0.032	bcd	0.302	c	0.430	cde
	110R	0.010	d	nd	-	0.447	cd	0.054	bcd	0.925	bc	0.704	bc
	140Ru	0.008	d	2.68E-06	c	0.416	cd	0.096	b	1.186	bc	0.676	bcd
	Syrah	0.004	d	9.38E-07	c	1.400	abc	0.079	bc	1.845	bc	0.620	bcd
	Grenache	0.005	d	2.44E-06	c	1.435	abc	0.207	a	1.544	bc	1.379	a
Root tips	RGM	2.622	bc	3.88E-05	ab	1.748	a	0.014	cd	2.207	bc	0.104	efg
	101-14 Mgt	2.508	bcd	4.48E-05	a	1.781	a	0.012	cd	1.729	bc	0.117	efg
	SO4	3.232	b	4.36E-05	a	1.715	a	0.060	bcd	2.600	bc	0.149	efg
	161-49 C	2.417	bcd	4.80E-05	a	0.728	abcd	0.064	bcd	1.734	bc	0.165	efg
	41B Mgt	6.399	a	nd	-	1.622	a	0.057	bcd	5.614	a	0.141	efg
	110R	2.050	bcd	1.03E-05	bc	0.250	d	0.038	bcd	2.650	bc	0.104	efg
	140Ru	1.351	bcd	2.18E-05	abc	0.217	d	0.050	bcd	3.671	ab	0.116	efg
	Syrah	1.494	bcd	8.10E-06	bc	0.473	bcd	0.036	bcd	2.891	abc	0.038	g
	Grenache	0.455	cd	1.17E-05	bc	0.630	abcd	0.062	bcd	1.640	bc	0.070	fg

Tableau S3.II- The transcript abundance of 6 *VviPIPs* genes in the leaves of genotypes studied at day 1 and day 4. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each genes. Day of sampling, genotype and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each genes, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		VvPIP1.1	*VvPIP1.2/4*	*VvPIP1.3/5*	*VvPIP2.1*	*VvPIP2.2*	*VvPIP2.3*
p-value ANOVA	Genotype	< 0.0001	0.177	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Day	< 0.0001	0.200	0.369	< 0.0001	< 0.0001	0.106
	Interaction	0.173	0.654	0.001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

		VvPIP1.1		*VvPIP1.2/4*		*VvPIP1.3/5*		*VvPIP2.1*		*VvPIP2.2*		*VvPIP2.3*	
Day	Day 1	0.005	a	2.04E-06	a	0.869	a	0.067	a	0.944	a	0.668	a
	Day 4	0.004	b	1.76E-06	a	0.845	a	0.029	b	0.176	b	0.800	a
Genotype	RGM	0.003	cd	2.33E-06	a	1.604	a	0.002	d	0.797	ab	0.711	bcd
	101-14 Mgt	0.002	d	1.71E-06	a	1.255	ab	0.003	cd	0.347	cd	1.453	a
	SO4	0.006	ab	1.42E-06	a	0.811	c	0.042	bc	0.371	cd	0.694	bc
	161-49 C	0.004	bcd	1.56E-06	a	0.476	cd	0.054	b	0.242	cd	0.828	d
	41B Mgt	0.002	cd	nd		0.491	cd	0.027	bcd	0.197	d	0.298	bcd
	110R	0.008	a	nd		0.311	d	0.037	bcd	0.528	bcd	0.756	bcd
	140Ru	0.007	a	2.34E-06	a	0.299	d	0.054	b	0.626	abc	0.547	bcd
	Syrah	0.003	cd	9.38E-07	a	1.230	b	0.060	b	1.009	a	0.467	cd
	Grenache	0.004	bc	2.59E-06	a	1.301	ab	0.144	a	0.825	ab	0.986	a

Interaction		*VvPIP1.1*		*VvPIP1.2/4*		*VvPIP1.3/5*		*VvPIP2.1*		*VvPIP2.2*		*VvPIP2.3*	
Day 1	RGM	0.004	cedf	3.01E-06	a	1.510	ab	0.003	d	1.150	bc	0.424	cd
	101-14 Mgt	0.003	cedf	2.18E-06	a	1.469	ab	0.005	d	0.688	cde	0.911	a
	SO4	0.007	abc	1.64E-06	a	0.542	def	0.042	bcd	0.392	de	0.576	bcd
	161-49 C	0.004	cedf	1.39E-06	a	0.499	ef	0.060	bcd	0.379	de	0.377	cd
	41B Mgt	0.002	ef	nd		0.306	f	0.032	cd	0.302	de	0.430	cd
	110R	0.010	a	nd		0.447	f	0.054	bcd	0.925	bcd	0.704	bcd
	140Ru	0.008	ab	2.68E-06	a	0.416	f	0.096	b	1.186	bc	0.676	bcd
	Syrah	0.004	cedf	9.38E-07	a	1.400	ab	0.079	bc	1.845	a	0.620	bcd
	Grenache	0.005	cdef	2.44E-06	a	1.435	ab	0.207	a	1.544	ab	1.379	ab
Day 4	RGM	0.003	def	1.65E-06	a	1.698	a	0.002	d	0.443	de	0.998	abc
	101-14 Mgt	0.001	f	1.24E-06	a	1.111	bcd	0.002	d	0.119	e	1.814	abcd
	SO4	0.005	cedf	1.21E-06	a	1.080	bcd	0.041	bcd	0.350	de	0.813	bcd
	161-49 C	0.003	def	1.74E-06	a	0.453	f	0.047	bcd	0.104	e	1.278	ab
	41B Mgt	0.002	def	nd		0.675	cdef	0.022	cd	0.091	e	0.166	d
	110R	0.006	bcd	nd		0.175	f	0.019	cd	0.131	e	0.808	bcd
	140Ru	0.006	bcde	1.99E-06	a	0.181	f	0.012	d	0.067	e	0.419	cd
	Syrah	0.002	def	nd		1.061	bcde	0.041	bcd	0.173	e	0.314	cd
	Grenache	0.004	cedf	2.73E-06	a	1.168	abc	0.080	bc	0.106	e	0.593	bcd

Tableau S3.III- The transcript abundance of 6 *VviPIPs* genes in the root tips of genotypes studied at day 1 and day 4. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each genes. Day of sampling, genotype and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each genes, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

p-value ANOVA	Genotype	0.012	0.014	0.001	0.001	0.014	0.019
	Day	0.237	< 0.0001	0.116	0.001	0.001	< 0.0001
	Interaction	0.149	0.024	0.436	0.145	0.293	0.146

		VvPIP1.1	***VvPIP1.2/4***	***VvPIP1.3/5***	***VvPIP2.1***	***VvPIP2.2***	***VvPIP2.3***
Day	Day 1	2.503 a	2.76E-05 a	0.989 a	0.045 a	2.788 a	0.111 b
	Day 4	1.951 a	1.18E-05 b	1.419 a	0.027 b	1.600 b	0.260 a
Genotype	RGM	2.365 ab	2.33E-05 a	1.982 ab	0.015 bc	2.051 ab	0.160 ab
	101-14 Mgt	3.336 ab	2.90E-05 a	2.937 a	0.009 c	1.541 b	0.245 ab
	SO4	2.825 ab	2.91E-05 a	1.715 abc	0.044 ab	1.906 ab	0.143 ab
	161-49 C	3.065 ab	2.59E-05 a	0.979 bc	0.051 a	1.623 b	0.260 ab
	41B Mgt	4.054 a	3.53E-05 a	1.180 abc	0.041 abc	3.931 a	0.206 ab
	110R	1.765 ab	1.17E-05 a	0.250 c	0.040 abc	1.981 ab	0.228 ab
	140Ru	1.332 ab	1.90E-05 a	0.261 c	0.044 ab	3.101 ab	0.300 a
	Syrah	1.021 ab	5.57E-06 a	0.672 bc	0.033 abc	1.835 ab	0.085 ab
	Grenache	0.420 b	1.07E-05 a	1.184 abc	0.041 abc	1.566 b	0.067 b

Interaction		***VvPIP1.1***	***VvPIP1.2/4***	***VvPIP1.3/5***	***VvPIP2.1***	***VvPIP2.2***	***VvPIP2.3***
Day 1	RGM	2.622 ab	3.88E-05 ab	1.748 ab	0.014 bc	2.207 ab	0.104 b
	101-14 Mgt	2.508 ab	4.48E-05 a	1.781 ab	0.012 bc	1.729 b	0.117 ab
	SO4	3.232 ab	4.36E-05 a	1.715 ab	0.060 ab	2.600 ab	0.149 ab
	161-49 C	2.417 ab	4.80E-05 a	0.728 b	0.064 a	1.734 b	0.165 ab
	41B Mgt	6.399 a	nd -	1.622 ab	0.057 ab	5.614 a	0.141 ab
	110R	2.050 ab	1.03E-05 ab	0.250 b	0.038 abc	2.650 ab	0.104 b
	140Ru	1.351 ab	2.18E-05 ab	0.217 b	0.050 abc	3.671 ab	0.116 b
	Syrah	1.494 ab	8.10E-06 ab	0.473 b	0.036 abc	2.891 ab	0.038 b
	Grenache	0.455 b	1.17E-05 ab	0.630 b	0.062 ab	1.640 b	0.070 b
Day 4	RGM	2.107 ab	7.68E-06 ab	2.217 ab	0.015 abc	1.896 b	0.216 ab
	101-14 Mgt	3.888 ab	1.33E-05 ab	3.707 a	0.007 c	1.416 b	0.330 ab
	SO4	2.417 ab	7.18E-06 ab	1.714 ab	0.028 abc	1.211 b	0.136 ab
	161-49 C	3.714 ab	3.83E-06 b	1.229 ab	0.038 abc	1.512 b	0.354 ab
	41B Mgt	1.709 ab	3.53E-05 ab	0.738 b	0.024 abc	2.248 ab	0.270 ab
	110R	1.479 ab	1.56E-05 ab	0.249 b	0.042 abc	1.313 b	0.352 ab
	140Ru	1.313 ab	1.62E-05 ab	0.305 b	0.039 abc	2.531 ab	0.485 a
	Syrah	0.547 b	3.88E-06 b	0.870 b	0.031 abc	0.780 b	0.132 ab
	Grenache	0.385 b	9.25E-06 ab	1.737 ab	0.019 abc	1.493 b	0.064 b

Tableau S3.IV- Pearson correlation matrice from soil water content (SWC), aquaporins and ABA related genes expression in leaves (-L) and root tips (-R). Bolded values are significant ($p < 0.05$).

Variables	PIP1.1-L	PIP1.2/4-L	PIP1.3/5-L	PIP2.1-L	PIP2.2-L	PIP2.3-L	PIP1.1-R	PIP1.2/4-R	PIP1.3/5-R	PIP2.1-R	PIP2.2-R	PIP2.3-R	NCED1-L	NCED2-L	ABF1-L	ABF2-L	HYD1-L	HYD2-L
PIP1.1-L	**1.00**	0.12	**-0.29**	0.15	**0.34**	-0.05	**-0.25**	0.10	**-0.44**	0.13	0.17	-0.18	-0.10	0.05	-0.14	**-0.40**	0.12	0.07
PIP1.2/4-L	0.12	**1.00**	**0.34**	**0.52**	0.19	**0.32**	-0.17	0.16	0.05	-0.09	-0.06	-0.14	-0.12	0.07	-0.12	0.18	**0.35**	-0.03
PIP1.3/5-L	**-0.29**	**0.34**	**1.00**	**0.29**	**0.36**	**0.37**	-0.17	-0.02	**0.42**	**-0.37**	**-0.24**	**-0.25**	0.06	**-0.23**	0.08	**0.61**	**0.39**	**-0.25**
PIP2.1-L	0.15	**0.52**	**0.29**	**1.00**	0.19	**0.41**	-0.21	-0.12	-0.07	**0.24**	-0.06	**-0.23**	0.03	-0.03	0.09	**0.26**	**0.54**	-0.10
PIP2.2-L	**0.34**	0.19	**0.36**	0.19	**1.00**	0.04	-0.17	0.07	-0.20	0.02	0.19	**-0.43**	**-0.44**	**-0.23**	**-0.45**	-0.15	**0.39**	**-0.48**
PIP2.3-L	-0.05	**0.32**	**0.37**	**0.41**	0.04	**1.00**	0.15	-0.13	**0.41**	-0.13	-0.14	**0.25**	0.00	**0.22**	0.03	0.09	**0.44**	-0.03
PIP1.1-R	**-0.25**	-0.17	-0.17	-0.21	-0.17	0.15	**1.00**	-0.02	**0.54**	0.19	**0.45**	**0.57**	-0.17	**0.31**	-0.16	-0.17	-0.18	-0.05
PIP1.2/4-R	0.10	0.16	-0.02	-0.12	0.07	-0.13	-0.02	**1.00**	0.03	-0.02	-0.01	-0.03	-0.13	0.04	-0.15	-0.14	-0.08	-0.10
PIP1.3/5-R	**-0.44**	0.05	**0.42**	-0.07	-0.20	**0.41**	**0.54**	0.03	**1.00**	**-0.25**	0.11	**0.28**	0.03	0.16	0.04	**0.27**	-0.03	-0.14
PIP2.1-R	0.13	-0.09	**-0.37**	**0.24**	0.02	-0.13	0.19	-0.02	**-0.25**	**1.00**	**0.25**	0.21	-0.12	0.17	-0.04	**-0.24**	0.13	-0.08
PIP2.2-R	0.17	-0.06	**-0.24**	-0.06	0.19	-0.14	**0.45**	-0.01	0.11	**0.25**	**1.00**	0.12	**-0.25**	0.08	**-0.25**	**-0.28**	-0.03	-0.14
PIP2.3-R	-0.18	-0.14	**-0.25**	**-0.23**	**-0.43**	**0.25**	**0.57**	-0.03	**0.28**	0.21	0.12	**1.00**	**0.23**	**0.32**	**0.28**	-0.07	-0.16	**0.40**
NCED1-L	-0.10	-0.12	0.06	0.03	**-0.44**	0.00	-0.17	-0.13	0.03	-0.12	**-0.25**	**0.23**	**1.00**	-0.17	**0.92**	**0.46**	0.04	**0.63**
NCED2-L	0.05	0.07	**-0.23**	-0.03	**-0.23**	**0.22**	**0.31**	0.04	0.16	0.17	0.08	**0.32**	-0.17	**1.00**	-0.18	-0.19	0.02	0.09
ABF1-L	-0.14	-0.12	0.08	0.09	**-0.45**	0.03	-0.16	-0.15	0.04	-0.04	**-0.25**	**0.28**	**0.92**	-0.18	**1.00**	**0.49**	0.09	**0.60**
ABF2-L	**-0.40**	0.18	**0.61**	**0.26**	-0.15	0.09	-0.17	-0.14	**0.27**	**-0.24**	**-0.28**	-0.07	**0.46**	-0.19	**0.49**	**1.00**	0.18	0.19
HYD1-L	0.12	**0.35**	**0.39**	**0.54**	**0.39**	**0.44**	-0.18	-0.08	-0.03	0.13	-0.03	-0.16	0.04	0.02	0.09	0.18	**1.00**	-0.10
HYD2-L	0.07	-0.03	**-0.25**	-0.10	**-0.48**	-0.03	-0.05	-0.10	-0.14	-0.08	-0.14	**0.40**	**0.63**	0.09	**0.60**	0.19	-0.10	**1.00**
RCAR5-L	0.01	-0.12	-0.11	-0.01	**0.38**	-0.21	**0.24**	-0.09	-0.06	0.12	**0.50**	**-0.31**	**-0.44**	-0.01	**-0.49**	**-0.30**	-0.03	**-0.39**
RCAR6-L	-0.09	0.04	-0.10	-0.12	0.17	**-0.30**	0.17	**0.25**	-0.01	0.13	0.14	**-0.28**	**-0.49**	**0.30**	**-0.53**	**-0.26**	-0.06	**-0.41**
SnRK2.1-L	0.10	**0.40**	-0.11	**0.26**	**-0.36**	0.19	-0.10	-0.05	0.00	-0.05	-0.02	**0.23**	**0.33**	**0.28**	**0.37**	0.15	0.08	**0.48**
SnRK2.6-L	-0.05	-0.18	**-0.26**	**-0.49**	**-0.25**	-0.07	**0.26**	**0.22**	0.07	-0.18	0.03	**0.33**	-0.19	**0.52**	-0.20	-0.06	-0.19	0.07
PP2C4-L	**-0.23**	-0.14	0.08	-0.01	**-0.48**	-0.03	-0.17	-0.08	0.08	-0.15	**-0.27**	**0.29**	**0.82**	-0.15	**0.83**	**0.59**	-0.01	**0.56**
PP2C9-L	-0.09	0.06	-0.10	0.02	**-0.48**	0.00	-0.15	-0.14	-0.07	-0.11	-0.18	**0.34**	**0.75**	-0.06	**0.76**	**0.41**	-0.05	**0.67**
NCED1-R	**-0.31**	-0.11	0.14	0.14	**-0.42**	**0.31**	-0.02	-0.21	**0.32**	-0.08	**-0.33**	**0.23**	**0.66**	-0.09	**0.68**	**0.39**	0.08	**0.35**
NCED2-R	**-0.39**	-0.07	0.10	-0.19	**-0.44**	**0.41**	0.07	-0.11	**0.38**	**-0.31**	**-0.33**	**0.38**	**0.29**	0.08	**0.32**	0.16	-0.03	0.18
ABF1-R	-0.20	-0.20	-0.08	-0.06	**-0.46**	**0.24**	0.16	-0.08	**0.32**	-0.11	-0.10	**0.56**	**0.53**	0.10	**0.57**	0.14	-0.03	**0.39**
ABF2-R	**-0.58**	-0.16	0.17	0.01	**-0.32**	0.14	**0.59**	-0.19	**0.67**	0.05	0.18	**0.39**	0.21	0.01	**0.27**	**0.41**	-0.10	0.02
HYD1-R	-0.15	-0.20	-0.21	-0.12	-0.15	-0.05	**0.31**	-0.19	0.10	0.16	**0.61**	**0.23**	0.01	0.12	0.00	-0.15	-0.16	0.04
HYD2-R	-0.14	-0.17	-0.22	**-0.24**	**-0.35**	-0.09	0.00	0.01	-0.09	0.10	-0.09	**0.28**	0.04	0.00	0.10	0.01	-0.20	**0.23**
RCAR5-R	0.17	-0.13	0.01	-0.04	**0.56**	-0.13	0.21	0.05	-0.04	0.12	**0.48**	**-0.35**	**-0.48**	-0.11	**-0.50**	**-0.36**	-0.02	**-0.45**
RCAR6-R	0.06	-0.20	-0.11	-0.06	**0.31**	-0.15	**0.34**	0.04	0.05	**0.22**	**0.46**	**-0.25**	**-0.43**	0.18	**-0.46**	**-0.32**	-0.12	**-0.37**
SnRK2.1-R	-0.22	-0.22	-0.15	-0.03	**-0.48**	0.12	0.20	-0.09	**0.29**	0.02	-0.01	**0.51**	**0.59**	0.02	**0.59**	0.16	-0.14	**0.41**
SnRK2.6-R	**0.67**	0.12	**-0.35**	0.00	0.16	-0.17	**-0.33**	**0.26**	**-0.45**	0.00	0.09	-0.09	-0.04	-0.09	-0.04	**-0.37**	0.05	0.09
PP2C4-R	**-0.26**	-0.07	-0.02	0.01	**-0.41**	-0.05	**-0.24**	0.04	-0.08	-0.12	**-0.35**	0.15	**0.45**	**-0.23**	**0.50**	**0.31**	-0.10	**0.26**
PP2C9-R	-0.17	-0.07	-0.16	-0.18	**-0.45**	0.02	-0.02	-0.02	-0.01	-0.19	-0.10	**0.35**	**0.32**	0.12	**0.37**	0.10	-0.20	**0.39**
SWC	**0.37**	0.12	0.04	0.07	**0.64**	-0.15	0.05	**0.30**	-0.13	0.15	**0.36**	**-0.40**	**-0.54**	-0.06	**-0.57**	**-0.40**	0.11	**-0.53**

Tableau S3.IV (suite)

Variables	RCAR5-L	RCAR6-L	SnRK2.1-L	SnRK2.6-L	PP2C4-L	PP2C9-L	NCED1-R	NCED2-R	ABF1-R	ABF2-R	HYD1-R	HYD2-R	RCAR5-R	RCAR6-R	SnRK2.1-R	SnRK2.6-R	PP2C4-R	PP2C9-R	SWC
PIP1.1-L	0.01	-0.09	0.10	-0.05	**-0.23**	-0.09	**-0.31**	**-0.39**	-0.20	**-0.58**	-0.15	-0.14	0.17	0.06	-0.22	**0.67**	**-0.26**	-0.17	**0.37**
PIP1.2/4-L	-0.12	0.04	**0.40**	-0.18	-0.14	0.06	-0.11	-0.07	-0.20	-0.16	-0.20	-0.17	-0.13	-0.20	-0.22	0.12	-0.07	-0.07	0.12
PIP1.3/5-L	-0.11	-0.10	-0.11	**-0.26**	0.08	-0.10	0.14	0.10	-0.08	0.17	-0.21	-0.22	0.01	-0.11	-0.15	**-0.35**	-0.02	-0.16	0.04
PIP2.1-L	-0.01	-0.12	**0.26**	**-0.49**	-0.01	0.02	0.14	-0.19	-0.06	0.01	-0.12	**-0.24**	-0.04	-0.06	-0.03	0.00	0.01	-0.18	0.07
PIP2.2-L	**0.38**	0.17	**-0.36**	**-0.25**	**-0.48**	**-0.48**	**-0.42**	**-0.44**	**-0.46**	**-0.32**	-0.15	**-0.35**	**0.56**	**0.31**	**-0.48**	0.16	**-0.41**	**-0.45**	**0.64**
PIP2.3-L	-0.21	**-0.30**	0.19	-0.07	-0.03	0.00	**0.31**	**0.41**	**0.24**	0.14	-0.05	-0.09	-0.13	-0.15	0.12	-0.17	-0.05	0.02	-0.15
PIP1.1-R	**0.24**	0.17	-0.10	**0.26**	-0.17	-0.15	-0.02	0.07	0.16	**0.59**	**0.31**	0.00	0.21	**0.34**	0.20	**-0.33**	**-0.24**	-0.02	0.05
PIP1.2/4-R	-0.09	**0.25**	-0.05	**0.22**	-0.08	-0.14	-0.21	-0.11	-0.08	-0.19	-0.19	0.01	0.05	0.04	-0.09	**0.26**	0.04	-0.02	**0.30**
PIP1.3/5-R	-0.06	-0.01	0.00	0.07	0.08	-0.07	**0.32**	**0.38**	**0.32**	**0.67**	0.10	-0.09	-0.04	0.05	**0.29**	**-0.45**	-0.08	-0.01	-0.13
PIP2.1-R	0.12	0.13	-0.05	-0.18	-0.15	-0.11	-0.08	**-0.31**	-0.11	0.05	0.16	0.10	0.12	**0.22**	0.02	0.00	-0.12	-0.19	0.15
PIP2.2-R	**0.50**	0.14	-0.02	0.03	**-0.27**	-0.18	**-0.33**	**-0.33**	-0.10	0.18	**0.61**	-0.09	**0.48**	**0.46**	-0.01	0.09	**-0.35**	-0.10	**0.36**
PIP2.3-R	**-0.31**	**-0.28**	**0.23**	**0.33**	**0.29**	**0.34**	**0.23**	**0.38**	**0.56**	**0.39**	**0.23**	**0.28**	**-0.35**	**-0.25**	**0.51**	-0.09	0.15	**0.35**	**-0.40**
NCED1-L	**-0.44**	**-0.49**	**0.33**	-0.19	**0.82**	**0.75**	**0.66**	**0.29**	**0.53**	0.21	0.01	0.04	**-0.48**	**-0.43**	**0.59**	-0.04	**0.45**	**0.32**	**-0.54**
NCED2-L	-0.01	**0.30**	**0.28**	**0.52**	-0.15	-0.06	-0.09	0.08	0.10	0.01	0.12	0.00	-0.11	0.18	0.02	-0.09	**-0.23**	0.12	-0.06
ABF1-L	**-0.49**	**-0.53**	**0.37**	-0.20	**0.83**	**0.76**	**0.68**	**0.32**	**0.57**	**0.27**	0.00	0.10	**-0.50**	**-0.46**	**0.59**	-0.04	**0.50**	**0.37**	**-0.57**
ABF2-L	**-0.30**	**-0.26**	0.15	-0.06	**0.59**	**0.41**	**0.39**	0.16	0.14	**0.41**	-0.15	0.01	**-0.36**	**-0.32**	0.16	**-0.37**	**0.31**	0.10	**-0.40**
HYD1-L	-0.03	-0.06	0.08	-0.19	-0.01	-0.05	0.08	-0.03	-0.03	-0.10	-0.16	-0.20	-0.02	-0.12	-0.14	0.05	-0.10	-0.20	0.11
HYD2-L	**-0.39**	**-0.41**	**0.48**	0.07	**0.56**	**0.67**	**0.35**	0.18	**0.39**	0.02	0.04	**0.23**	**-0.45**	**-0.37**	**0.41**	0.09	**0.26**	**0.39**	**-0.53**
RCAR5-L	**1.00**	**0.51**	**-0.36**	-0.09	**-0.51**	**-0.44**	**-0.42**	**-0.44**	**-0.43**	-0.03	**0.45**	**-0.35**	**0.74**	**0.71**	**-0.35**	-0.16	**-0.44**	**-0.30**	**0.66**
RCAR6-L	**0.51**	**1.00**	**-0.28**	0.22	**-0.52**	**-0.46**	**-0.44**	**-0.35**	**-0.44**	-0.11	0.05	**-0.24**	**0.38**	**0.50**	**-0.41**	-0.15	**-0.41**	**-0.31**	**0.53**
SnRK2.1-L	**-0.36**	**-0.28**	**1.00**	-0.04	**0.29**	**0.59**	0.19	0.16	**0.27**	0.06	-0.05	0.09	**-0.41**	**-0.28**	**0.31**	0.16	**0.23**	**0.46**	**-0.42**
SnRK2.6-L	-0.09	0.22	-0.04	**1.00**	0.03	-0.04	-0.18	0.20	0.14	-0.01	0.07	**0.25**	-0.22	-0.13	0.00	0.05	-0.02	**0.27**	-0.15
PP2C4-L	**-0.51**	**-0.52**	**0.29**	0.03	**1.00**	**0.79**	**0.57**	**0.37**	**0.60**	**0.38**	-0.01	0.16	**-0.56**	**-0.51**	**0.65**	-0.09	**0.60**	**0.45**	**-0.63**
PP2C9-L	**-0.44**	**-0.46**	**0.59**	-0.04	**0.79**	**1.00**	**0.44**	**0.27**	**0.46**	0.21	0.02	0.13	**-0.50**	**-0.42**	**0.53**	0.06	**0.52**	**0.54**	**-0.56**
NCED1-R	**-0.42**	**-0.44**	0.19	-0.18	**0.57**	**0.44**	**1.00**	**0.54**	**0.66**	**0.46**	-0.04	0.02	**-0.44**	**-0.40**	**0.65**	**-0.31**	**0.43**	0.18	**-0.53**
NCED2-R	**-0.44**	**-0.35**	0.16	0.20	**0.37**	**0.27**	**0.54**	**1.00**	**0.66**	**0.30**	0.06	**0.44**	**-0.42**	**-0.37**	**0.47**	-0.09	**0.61**	**0.52**	**-0.58**
ABF1-R	**-0.43**	**-0.44**	**0.27**	0.14	**0.60**	**0.46**	**0.66**	**0.66**	**1.00**	**0.52**	0.19	**0.27**	**-0.42**	**-0.35**	**0.85**	-0.04	**0.48**	**0.46**	**-0.57**
ABF2-R	-0.03	-0.11	0.06	-0.01	**0.38**	0.21	**0.46**	**0.30**	**0.52**	**1.00**	**0.23**	0.03	-0.12	0.02	**0.57**	**-0.56**	0.14	0.11	**-0.32**
HYD1-R	**0.45**	0.05	-0.05	0.07	-0.01	0.02	-0.04	0.06	0.19	**0.23**	**1.00**	0.05	0.15	**0.25**	0.19	-0.13	-0.03	**0.24**	0.05
HYD2-R	**-0.35**	**-0.24**	0.09	**0.25**	0.16	0.13	0.02	**0.44**	**0.27**	0.03	0.05	**1.00**	**-0.29**	-0.22	0.20	0.14	**0.44**	**0.37**	**-0.48**
RCAR5-R	**0.74**	**0.38**	**-0.41**	-0.22	**-0.56**	**-0.50**	**-0.44**	**-0.42**	**-0.42**	-0.12	0.15	**-0.29**	**1.00**	**0.80**	**-0.31**	0.02	**-0.46**	**-0.43**	**0.73**
RCAR6-R	**0.71**	**0.50**	**-0.28**	-0.13	**-0.51**	**-0.42**	**-0.40**	**-0.37**	**-0.35**	0.02	**0.25**	-0.22	**0.80**	**1.00**	-0.21	-0.18	**-0.45**	**-0.30**	**0.61**
SnRK2.1-R	**-0.35**	**-0.41**	**0.31**	0.00	**0.65**	**0.53**	**0.65**	**0.47**	**0.85**	**0.57**	0.19	0.20	**-0.31**	-0.21	**1.00**	-0.09	**0.48**	**0.37**	**-0.52**
SnRK2.6-R	-0.16	-0.15	0.16	0.05	-0.09	0.06	**-0.31**	-0.09	-0.04	**-0.56**	-0.13	0.14	0.02	-0.18	-0.09	**1.00**	0.19	0.13	0.13
PP2C4-R	**-0.44**	**-0.41**	**0.23**	-0.02	**0.60**	**0.52**	**0.43**	**0.61**	**0.48**	0.14	-0.03	**0.44**	**-0.46**	**-0.45**	**0.48**	0.19	**1.00**	**0.61**	**-0.56**
PP2C9-R	**-0.30**	**-0.31**	**0.46**	**0.27**	**0.45**	**0.54**	0.18	**0.52**	**0.46**	0.11	**0.24**	**0.37**	**-0.43**	**-0.30**	**0.37**	0.13	**0.61**	**1.00**	**-0.53**
SWC	**0.66**	**0.53**	**-0.42**	-0.15	**-0.63**	**-0.56**	**-0.53**	**-0.58**	**-0.57**	**-0.32**	0.05	**-0.48**	**0.73**	**0.61**	**-0.52**	0.13	**-0.56**	**-0.53**	**1.00**

Chapitre 4 : Effet du greffage sur la régulation des flux transpiratoires en situation de déficit hydrique

I- Introduction

Le greffage est utilisé en agriculture depuis plus de 2000 ans afin d'augmenter la production du greffon et de réduire la sensibilité des plantes aux maladies édaphiques (Kubota et al., 2008). Dans l'histoire, les premières mentions du greffage sont souvent associées à la vigne, puis cette technique a beaucoup été utilisée pour les Rosacées fruitières qui présentent des difficultés d'enracinement à partir de boutures (Mudge et al., 2009). Ce procédé associant deux génotypes a permis de sauver la viticulture française du phylloxera (Pouget, 1990). Son usage s'est ensuite étendu au court du XXème siècle aux solanacées et aux cucurbitacées (King et al., 2010).

Par son rôle primordial dans l'acquisition des ressources minérales et hydriques, le porte-greffe influence le développement, la physiologie, ainsi que la production et sa qualité au niveau greffon (Tandonnet et al., 2008; Jones et al., 2009; Rouphael et al., 2010). De plus par ces propriétés intrinsèques, le porte-greffe peut conduire à une meilleure adaptation du greffon à certaines contraintes, notamment au déficit hydrique (Jones, 2012; Albacete et al., 2015). L'actuel changement climatique (IPCC, 2014) rend indispensable la recherche de solutions permettant une meilleure adaptation à la sécheresse, notamment pour les espèces d'intérêt économique majeur. Pour la vigne, les porte-greffes constituent l'une de ces solutions (Duchêne et al. 2014, Marguerit et al., 2014) car ils sont caractérisés par une forte diversité de leur capacité d'adaptation (Carbonneau, 1985; Peccoux, 2011; Marguerit et al., 2012, Serra et al., 2014, Tramontini et al., 2013 ; Ollat et al., 2015).

La comparaison de porte-greffes sensibles et tolérants à la sécheresse a permis d'identifier certains mécanismes qui pourraient être responsables d'une meilleure adaptation. De cette manière, la tolérance des porte-greffes est souvent associée à une densité racinaire plus importante (Peccoux, 2011, Serra et al., 2014) ou à des différences morphologiques permettant une meilleure pénétration dans le sol (Branas et Vergnes, 1957). La capacité des porte-greffes tolérants à développer des racines profondes (Southey et Archer, 1988) ou à maintenir sa croissance racinaire en situation de contrainte hydrique (Bauerle et al., 2008) sont aussi évoquées. Ces éléments aboutissent à une meilleure prospection racinaire augmentant la fourniture en eau de la vigne. Ces caractères peuvent être étudiés au champ, bien que difficilement, mais ne sont pas pris en compte dans les systèmes d'étude en pot (Marguerit et al., 2010).

Chez la vigne il existe un déterminisme génétique de la capacité d'extraction de l'eau par le système racinaire (Marguerit et al., 2012) qui pourrait être expliqué par la morphologie racinaire et sa plasticité en situation de déficit hydrique (Serra et al., 2014). La conductance hydraulique racinaire des porte-greffes tolérants est souvent supérieure à celle des porte-greffes sensibles que ce soit ou non en situation de contrainte (de Herralde et al., 2006; Lovisolo et al., 2008 ; Alsina et al., 2011; Tramontini et al., 2013 ; Barios-Masias et al., 2015). En situation de déficit hydrique, le développement de barrières apoplastiques est plus important pour les porte-greffes sensibles (Alsina et al., 2011, Barios-Masias et al., 2015), ce qui réduirait leur conductivité hydraulique racinaire. De plus la part du transport transcellulaire liée à l'activité des aquaporines serait supérieure chez les porte-greffes tolérants (Lovisolo et al., 2008a; Gambetta et al., 2012; Tramontini et al., 2013). L'ensemble de ces éléments peuvent concourir à une meilleure capacité d'absorption des porte-greffes tolérants en situation de contrainte ou non.

Le transport de l'eau par les parties racinaires est dépendant de la morphologie des vaisseaux conducteurs et leur plasticité en situation de déficit hydrique. En conditions naturelles, la forte demande transpiratoire en situation de contrainte édaphique conduit à des écarts importants de potentiel hydrique pouvant entrainer la cavitation des vaisseaux du xylème (Tyree et Sperry, 1989). Chez la vigne, les racines et les feuilles y sont plus sensibles que la tige (Tramontini et Lovisolo, 2015). Il apparait que les porte-greffes tolérant à la sécheresse sont plus résistants à l'embolie que les sensibles (Lovisolo et al., 2008a; Alsina et al., 2011; Knipfer et al., 2015). Le diamètre initial des vaisseaux ainsi que sa réduction en situation de déficit hydrique pourraient permettre une protection accrue des porte-greffes tolérants (Peccoux, 2011). Il est également proposé que l'ajustement des flux hydriques par le transport transcellulaire participe d'avantage au phénomène de récupération chez les porte-greffes bien adaptés à la sécheresse (Knipfer et al., 2015).

Si l'adaptation à la sécheresse de différents porte-greffes peut dépendre de leurs caractéristiques propres, les effets du greffage et de l'interaction avec le greffon sont également déterminants. En effet le transport de l'eau vers les parties aériennes est fortement dépendant du point de greffe qui représente la plus forte résistance hydraulique à l'échelle de la plante (de Herralde et al., 2006). En comparant 110R et SO4 associés à un même greffon, il apparait aussi que la résistance hydraulique au point de greffe serait plus importante pour le porte-greffe sensible SO4 (de Herralde et al., 2006).

Le porte-greffe influence le développement de la canopée et la régulation de la transpiration du greffon. Les porte-greffes dit tolérants à la sécheresse sont souvent ceux qui conduisent à un développement accru des parties aériennes (Ollat et al., 2003; Gambetta et al., 2012) mêmes si ce n'est pas toujours le cas (Ollat et al., 2003). La transpiration, l'ouverture stomatique et l'efficience d'utilisation de l'eau sont aussi largement influencées par le porte-greffe (Iacono et al., 1998; Soar et al., 2006a; Peccoux, 2011; Marguerit et al., 2012, Tramontini et al., 2013). D'après Alsina et al. (2011), le porte-greffe pourrait influencer le caractère an-isohydrique d'un greffon donné. Outre son rôle sur le contrôle des propriétés hydrauliques de la plante présenté précédemment et décrit par Tramontini et al. (2013), le porte-greffe peut agir sur la régulation de la transpiration du greffon en modifiant la teneur en ABA xylémienne (Soar et al., 2006a). Néanmoins, le rôle du porte-greffe dans la signalisation partie racinaire – partie aérienne de l'état hydrique du sol et les mécanismes impliqués pour réguler les pertes en eau du greffon restent à définir plus précisément

Dans ce chapitre, la réponse de la transpiration de 23 combinaisons greffon/porte-greffe placées en situation de déficit hydrique a été étudiée. Une étude comparative de la régulation des flux hydriques au sein de la plante et des teneurs en ABA au niveau foliaire et racinaire a été menée sur ces combinaisons. Les différences génotypiques seront caractérisées en situation d'homogreffe et d'hétérogreffe ainsi qu'en situation non contrainte et de déficit hydrique. L'objectif est d'essayer de comprendre comment sont régulés les signaux hormonaux et hydrauliques au sein de la plante greffée et de les lier au contrôle transpiratoire.

Tableau 4.I - Genotypes, clone number and supplier for plant material.

Genotypes	Clone number	Supplier
Syrah	524	The Aude chamber of agriculture
Grenache	136	
Riparia Gloire	1030	
101-14 Mgt	1043	Amblevert
SO4	762	The Aude chamber of agriculture
161-49 C	197	
41B Mgt	194	
110R	756	ENTAV-INRA
140Ru	101	

Figure 4.1- Grafting process. In the above panel, complete grafting process is shown, from left to right, scion/rootstock assembly with the machine, the omega graft, parafin bath, and stratification box. In the below panel, longitudinal sections of a graft union after 14 and 28 day of stratification showing the cal development (Photo :Sarah Jane Cookson).

II- Matériel et méthodes

II-1. Matériel végétal

Les neuf génotypes précédemment caractérisés en tant que boutures ont été cultivés greffés (Tableau 4.I). Les génotypes commercialement utilisés en tant que porte-greffe ont à la fois été étudiés en situation d'homogreffe et d'hétérogreffe associés aux génotypes greffons Syrah (SY) et Grenache (GR). Les deux génotypes greffon (SY et GR) ont également été étudiés en situation d'homogreffe (Tableau 4.II). Au total 23 combinaisons greffon/porte-greffe ont été étudiées.

Les combinaisons greffon/porte-greffe ont été assemblées par l'équipe technique du pôle matériel végétal du laboratoire. Les bois ont été achetés en janvier et février chez différents pépiniéristes, puis stockés en chambre froide à 5°C. A la mi-mars, les bois ont été réhydratés durant 24h dans de l'eau à 25°C, débités en boutures greffables éborgnées (30cm) pour les porte-greffes, ou en boutures à 1 bourgeon (7-8 cm) pour les greffons, puis associés à la machine par une greffe en oméga (Figure 4.1). Le point de greffe a été protégé à l'aide de paraffine et les greffes ont été placées pendant 21 jours en stratification. Cette étape permet la formation du cal de soudure entre le greffon et le porte-greffe. Elle est réalisée à l'obscurité dans des caisses en bois remplis de sciure et stockées à 28°C sous forte humidité relative (>80%). Début mai, les jeunes greffes ont été plantées dans du sable, avant d'être forcées sous tunnel plastique où elles étaient arrosées quotidiennement à l'eau. Après le débourrement et l'émergence des racines, 20 à 60 greffes par combinaison ont été déterrées délicatement pour ne pas abimer les racines, pesées et rempotées dans des pots de 4L contenant exactement 4 kg de sable humide. Lors du rempotage, des prélèvements réguliers de sable ont permis d'estimer sa teneur en eau et de déterminer, pour chaque pot, la quantité absolue de sable sec.

Après rempotage, les plantes ont été placées sous serre en conditions semi-contrôlées et arrosées 3 fois par jour avec la solution nutritive utilisée couramment au laboratoire (Tandonnet et al., 2010). Les bourgeons axillaires ont été supprimés régulièrement afin de conduire les plants sur un seul axe. Après 3 à 5 semaines de croissance, les plantes ayant une tige d'environ 1m50 et possédant une quinzaine de feuilles ont été tuteurées. La surface foliaire de chaque plante a été déterminée comme précédemment (voir Chapitre 2), par mesure de la longueur de la nervure principale de chaque feuille et transformation de la longueur en surface via les régressions établies précédemment pour chaque génotype. La veille de l'expérimentation, l'ensemble des plantes ont été rognées de manière à limiter la surface foliaire totale à 800 cm² et lorsque cette surface n'était pas atteinte, seul l'apex foliaire a été ôté. Les pots ont été ensachés de manière à limiter les pertes en eau par évaporation et placés en serre expérimentale équipée d'un système de contrôle des températures par cooling.

Tableau 4.II- Presentation of the studied scion/rootstock combinations, their abbreviation in the manuscript and the dates of the three experiments undertaken.

N° of experiment	Duration of the experiment	Graft combinaison		Abbreviation in the manuscript
		Scion	Rootstock	
1	From 04/07/2014 to 21/07/2014	101-14 Mgt	101-14 Mgt	101-14/101-14
		Syrah	101-14 Mgt	SY/101-14
		Grenache	101-14 Mgt	GR/101-14
		110R	110R	110R/110R
		Syrah	110R	SY/110R
		Grenache	110R	GR/110R
		Syrah	Syrah	SY/SY
		Grenache	Grenache	GR/GR
2	From 01/08/2014 to 18/08/2014	Riparia Gloire	Riparia Gloire	RGM/RGM
		Syrah	Riparia Gloire	SY/RGM
		Grenache	Riparia Gloire	GR/RGM
		41B Mgt	41B Mgt	41B/41B
		Syrah	41B Mgt	SY/41B
		Grenache	41B Mgt	GR/41B
		Syrah	Syrah	SY/SY
		Grenache	Grenache	GR/GR
3	From 22/08/2014 to 08/09/2014	SO4	SO4	SO4/SO4
		Syrah	SO4	SY/SO4
		Grenache	SO4	GR/SO4
		161-49 C	161-49 C	161-49/161-49
		Syrah	161-49 C	SY/161-49
		Grenache	161-49 C	GR/161-49
		140Ru	140Ru	140Ru/140Ru
		Syrah	140Ru	SY/140Ru
		Grenache	140Ru	GR/140Ru
		Syrah	Syrah	SY/SY

L'intensité lumineuse (PPFD, Photosynthetic Photon Flux Density) au-dessus de la canopée a été déterminée grâce à deux capteurs de rayonnement (LI-190, LI-COR, Nebraska, USA) et les températures sèches et humides ont été mesurées par deux psychromètres. L'ensemble des données ont été enregistrées toutes les 15 minutes (Campbell 21X, Campbell Scientific Inc., Loughborough, UK) durant toute l'expérimentation et le déficit de pression de vapeur a été calculé selon Allen et al. (1998).

II-2. Stratégie expérimentale

La serre expérimentale semi-contrôlée dispose d'un dispositif de 150 balances (CH15R11 CHAMPII, Obaus GmbH, Nänikon, Switzerland) précédemment décrit par Marguerit et al. (2012) (Figure 4.2). Les pesées sont enregistrées automatiquement toutes les 15 minutes permettant un suivi fin de la transpiration. Au total, 20 plantes de chacune des 23 combinaisons greffon/porte-greffe ont été étudiées, ce qui représente une quantité de plants très largement supérieure à la capacité d'accueil de la serre. L'expérimentation a donc été conduite en 3 fois de manière à caractériser le comportement de 2 à 3 génotypes en homo- et hétérogreffe par expérimentation (noté comme Expérimentation 1, 2 et 3; Tableau 4.II). De manière à pouvoir comparer l'ensemble des combinaisons entre elles, les combinaisons SY/SY et GR/GR ont été étudiées lors de chaque expérimentation. Seule la combinaison GR/GR était absente de l'expérimentation 3, en raison d'un manque de plants lié au faible taux de reprise de cette combinaison après stratification.

La durée de chaque expérimentation étant de 18 jours, les étapes de greffage précédemment décrites ont été réalisées en deux fois avec deux semaines de décalage afin d'obtenir des plantes de taille relativement homogène pour les différentes combinaisons sur toute la durée de l'étude (du 4 juillet au 8 septembre). Les génotypes ont été sélectionnés pour les différentes expérimentations en fonction de leur précocité du développement en prenant soin de sélectionner un génotype dit tolérant au déficit hydrique à chaque expérimentation (Carbonneau, 1985).

Figure 4.2- Glasshouse balance platform.

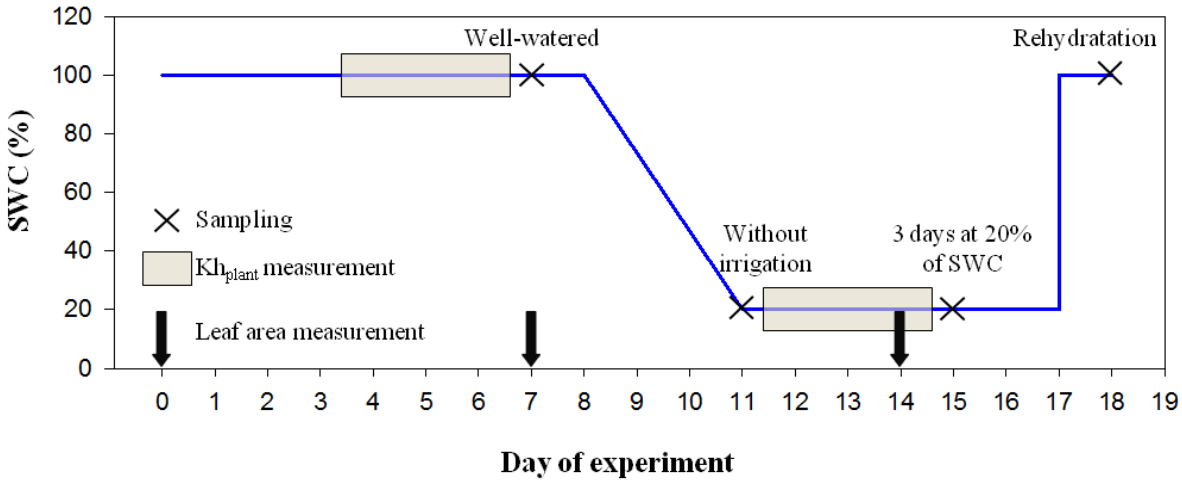


Figure 4.3- Experimental design. During the first eight days, the plants were manually irrigated at 8:00 a.m. to maintain 100% of soil water content (SWC). During the three next days, the irrigation was withheld to reach 20% of SWC and this content was maintained during the six following days by daily irrigation. At day 17, a full irrigation was performed and maintained until day 18. The blue line shows the substrate water content during the 18 days of the experiment. Crosses display the different sampling dates and their names. The arrows display the days where the leaf area measurement was performed. Boxes show the three days of plant hydraulic measurement in well-watered conditions and during the period of maintenance of water deficit.

II-3. Contrôle du statut hydrique du substrat

Lors des expérimentations, le statut hydrique du substrat de chaque pot a été évalué quotidiennement par pesée à partir du calcul de la teneur en eau du sol (SWC, Soil Water Content).

$$SWC (\%) = (Wt - Wd - Wp - Ws) * 100 / (Ws * \theta s)$$

Avec, Wt (Weight total) correspondant au poids total obtenu par le dispositif de balances et Wd (Weight device) correspondant à la somme du poids des tuteurs, des pots, des coupelles et du sac en plastique. Le poids des tuteurs et des coupelles a été mesuré individuellement alors que le poids du pot et du sac en plastique a été moyenné sur deux lots de 50. Wp (Weight plant) correspond à la biomasse de la plante au rempotage pour les calculs en cours d'expérimentation, puis cette valeur a été corrigée par la biomasse fraiche de la plante à la récolte. Ws (Weight dry sand) correspond au poids du sable sec, évalué pour chaque plant lors du rempotage des plants. θs (Water holding capacity of soil) correspond à la capacité de rétention en eau du sable évaluée sur 10 pots et rapporté au gramme de sable sec.

II-4. Traitements hydriques appliqués

Durant les 18 jours d'expérimentation, la teneur en eau des pots a été contrôlée par pesée afin de l'ajuster aux valeurs cibles désirées pour les différentes phases. Quatre phases distinctes ont été définies (Figure 4.3). Durant les 7 premiers jours, les plants ont été arrosés à la solution nutritive de manière à maintenir un SWC de 100%. Deux arrosages quotidiens ont été effectués, le premier de 8h à 9h30 pour ramener SWC à 100%, et le second de 21h à 22h où 50 mL ont été ajoutés lorsque les plantes avaient transpiré au moins la valeur équivalente dans la journée. Le 8ème jour, l'arrosage matinal a ramené la teneur en eau à 100%, puis durant les 3 à 4 jours suivant, l'irrigation a été stoppée pour conduire à un dessèchement non contrôlé jusqu'à un SWC de 20%. Durant les jours 11 à 16, un arrosage matinal (8h à 9h30) a permis de maintenir le statut hydrique à 20% du SWC. Finalement le jour 17, les plants ont été ré-arrosés de manière à atteindre 100% du SWC, et ce niveau a été maintenu jusqu'au jour 18.

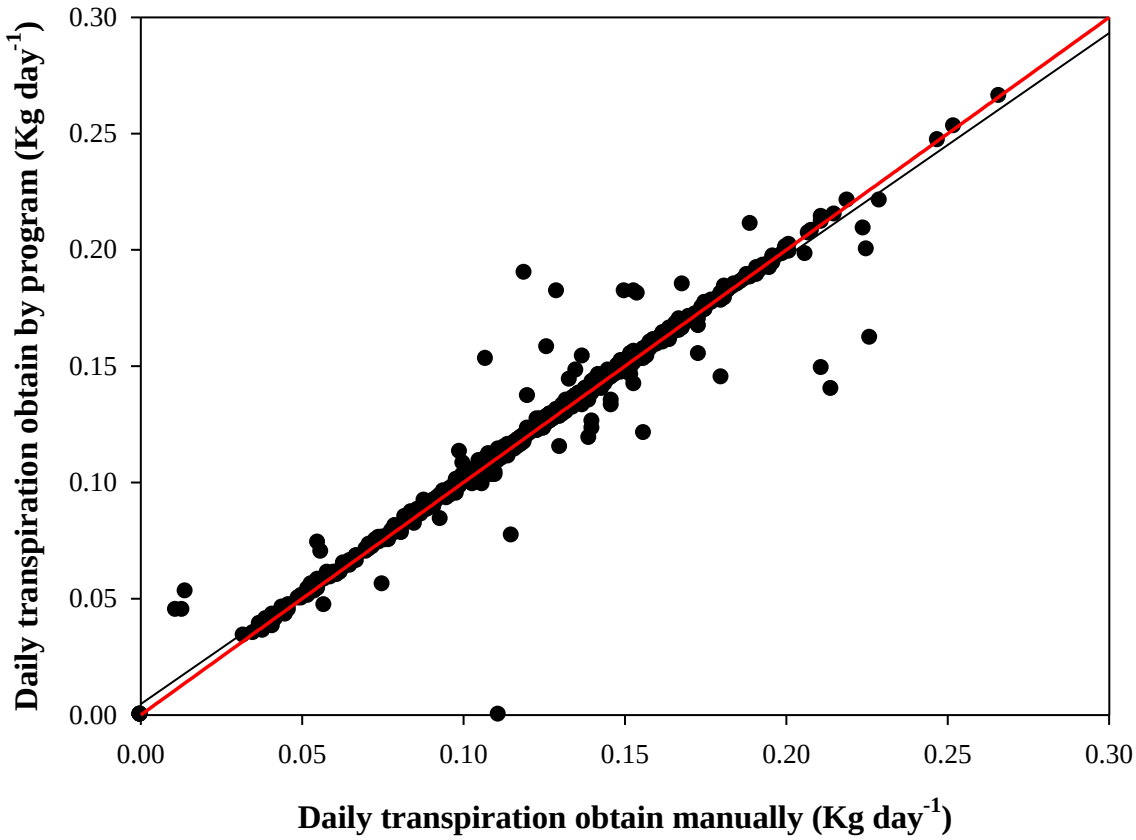


Figure 4.4- Relation between automatical and manual calculation of plant daily transpiration (n = 588, R^2 = 0.947). The red line shows the 1:1 relationship**.**

II-5. Détermination de la transpiration journalière

La transpiration a été déterminée par l'analyse des variations de poids des pots installés sur chacune des balances à l'aide d'une procédure automatique mise en place par G. Gambetta. Ce programme additionne la différence de poids entre chaque enregistrement (toutes les 15 minutes) pour chaque plante tout en écartant toutes les valeurs aberrantes. Les résultats de cette procédure ont été comparés à un calcul manuel sur plus de 580 mesures de transpiration journalière (Figure 4.4).

Les mesures de transpiration journalière ont été rapportées à la surface foliaire de chaque plante. La surface foliaire a été évaluée en début d'expérimentation et les jours 7 et 14 comme décrit précédemment (Figure 4.1), puis intégrée tout au long de l'expérimentation, en prenant soin de retrancher la surface de chaque feuille supprimée lors des différentes mesures de potentiel hydrique.

II-6. Mesure de conductance hydraulique

La conductance hydraulique de la plante entière (Kh_{plant}) a été évaluée par la méthode de flux transpiratoire décrite par Lovisolo et Tramontini (2010) en divisant le flux transpiratoire par la différence de potentiel hydrique du sol et de la tige.

Le potentiel hydrique du sol a été déterminé par la mesure du potentiel de base réalisée sur la première ou la deuxième feuille basale entre 4h et 5h (avant le lever du jour). Le potentiel hydrique de tige a été mesuré sur deux feuilles matures ensachées au moins 2h avant entre 13h et 14h30. Les deux feuilles choisies se situent aux extrémités apicales et basales de la tige. Elles ont été choisies dans le but de séparer la conductance hydraulique racinaire et celle de la tige. Cependant dans une large majorité des cas, la différence entre le potentiel hydrique de la feuille basale et de celle apicale était négative, rendant impossible le calcul de conductance hydraulique de la tige ($\Psi stem_{basal} - \Psi stem_{apical} < 0$). Le choix a donc été fait d'utiliser uniquement le potentiel de tige déterminé pour la feuille apicale. En effet ces deux valeurs sont fortement corrélées (Expérimentation n°2, $R^2 = 0.71$; Expérimentation n°3, $R^2 = 0.72$) mais dans la majorité des cas le potentiel hydrique de tige déterminé à partir la feuille basale s'écarte de la relation 1:1. La transpiration a été déterminée par gravimétrie sur la période de 11h à 13h et rapportée à la surface foliaire.

Lors de l'expérimentation n°1, une erreur d'organisation a entrainé l'arrosage des plantes entre la mesure du potentiel hydrique de base et les mesures de potentiel hydrique de tige, les données n'ont alors pas pu être exploitées pour le calcul de la conductance hydraulique.

Du fait du grand nombre de potentiel hydrique à mesurer, le choix a été fait d'étaler les mesures sur 2 à 3 jours de manière à limiter l'écart de temps entre la première et la dernière mesure (Figure 4.3).

II-7. Mesure de conductance stomatique

La conductance stomatique (g_s), l'assimilation carbonée (A) et la transpiration foliaire (E) des plantes ont été déterminés par un appareil de mesure d'échange gazeux (GFS-3000, Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany). Les mesures ont été effectuées sur les mêmes plantes et au même moment que les mesures de conductance hydraulique. La 4ème ou la 5ème feuille en partant de l'extrémité apicale (en fonction de la taille de la feuille) a été placée dans la chambre d'assimilation de 8 cm² de surface mesurée. Les paramètres climatiques à l'intérieur de la cuvette ont été fixés pour obtenir un rayonnement de 1200 µmol m^{-2} s^{-1} sur la surface adaxiale de la feuille, une concentration en CO_2 atmosphérique de 380 µmol mol^{-1}, et une température de 25°C. L'humidité relative n'a pas été contrôlée. Les mesures ont été prises après observation d'une différence de teneur en CO_2 et en H_2O stable, soit environ 2 minutes.

II-8. Prélèvements des échantillons

Lors des jours 7, 11, 15 et 18, 5 plants par combinaison ont été échantillonnés de 13h à 14h-14h30, ce qui correspondait à 4 prélèvements: un témoin en situation non contrainte au jour 7 (Well-watered), un en déficit hydrique au jour 11 (water deficit), un en déficit hydrique prolongé au jour 15 (3 days at 20% of SWC, prolonged water deficit) et un en réhydratation au jour 18 (Rehydratation) (Figure 4.3). Au moment de ces 4 prélèvements, le potentiel de tige a été déterminé à l'aide d'une chambre à pression, sur la 4ème feuille en partant de l'extrémité apicale et préalablement ensachée à l'obscurité (au moins 2h avant).

La feuille juste au-dessus et celle juste en dessous ont été prélevées sans pétiole pour les extractions d'ARN totaux (Cf Chapitre 5) et les dosages hormonaux. Les plants ont ensuite été déracinés et des échantillons racinaires ont été prélevés. Les pointes racinaires d'environ 2 cm de long ont été utilisées pour les extractions d'ARN totaux et les dosages hormonaux. Après prélèvement, les échantillons ont été plongés dans l'azote liquide et stockés à -80°C avant analyse. Le reste de la plante a été pesé et séché en séparant, les racines, le tronc, la tige (comprenant les pétioles) et les feuilles sans pétiole.

Pour les échantillons en déficit hydrique (Without irrigation) et en réhydratation, le potentiel de base a été déterminé le jour de la récolte entre 4h et 5h du matin, sur la première ou la deuxième feuille située à la base de la tige.

II-9. Dosage hormonaux (ABA, PA, DPA et ABA-GE)

Contrairement aux dosages de métabolites réalisés au chapitre 2, les dosages ont été effectués sur les feuilles et les pointes racinaires et non sur la sève xylémienne. Les deux tissus analysés ont été broyés sous azote liquide par un broyeur à bille (MM 400, Retsch GmbH, Hann, Germany). En moyenne 150 mg de matière fraiche ont été lyophilisés (Alpha LSC 1-4, Christ, Germany) avant d'être envoyé en Australie (CSIRO) pour être extraits et analysés selon les méthodes décrites par Speirs et al. (2013). Seuls les échantillons sans contrainte et en déficit hydrique ont été analysés.

II-10. Analyses statistiques

Les analyses de variance réalisées sur les données de surface foliaire, le potentiel hydrique, de conductance stomatique, de conductivité hydraulique, ou de teneur en métabolites sont décrites au fur et à mesure dans la partie résultat. Les effets sont considérés comme significatifs au seuil de 5%, et les comparaisons multiples ont été réalisées par un test de Tukey (HSD). Il est important de noter que l'ensemble des combinaisons possibles avec les génotypes utilisés n'ont pas été étudiées (par exemple RGM/SY). L'analyse de variance montrant des effets porte-greffes sur les génotypes SY et GR et des effets greffon sur les génotypes RGM, 101-14, SO4, 161-49, 41B, 110R et 140Ru correspond à la comparaison des homogreffes respectives avec les autres combinaisons. Les analyses de variance, les analyses en composantes principales (ACP), les analyses discriminantes ainsi que le calcul des coefficients de corrélation de Pearson ont été réalisés à l'aide du logiciel XLStat (Addinsoft SARL., Paris, France). Ce logiciel a également permis de générer les analyses de similarité entre variables, en utilisant la méthode d'assemblage par la moyenne des coefficients de Pearson. Les cartes de chaleur ont été générées à l'aide du logiciel R v.2.15.3 (R Development Core Team, 2008). Les régressions entre la conductance stomatique et l'assimilation carbonée avec le potentiel de base ont été établies à l'aide de la procédure incluse dans le logiciel Sigmaplot 11.0 (Jandel Scientific, Erkrath, Germany).

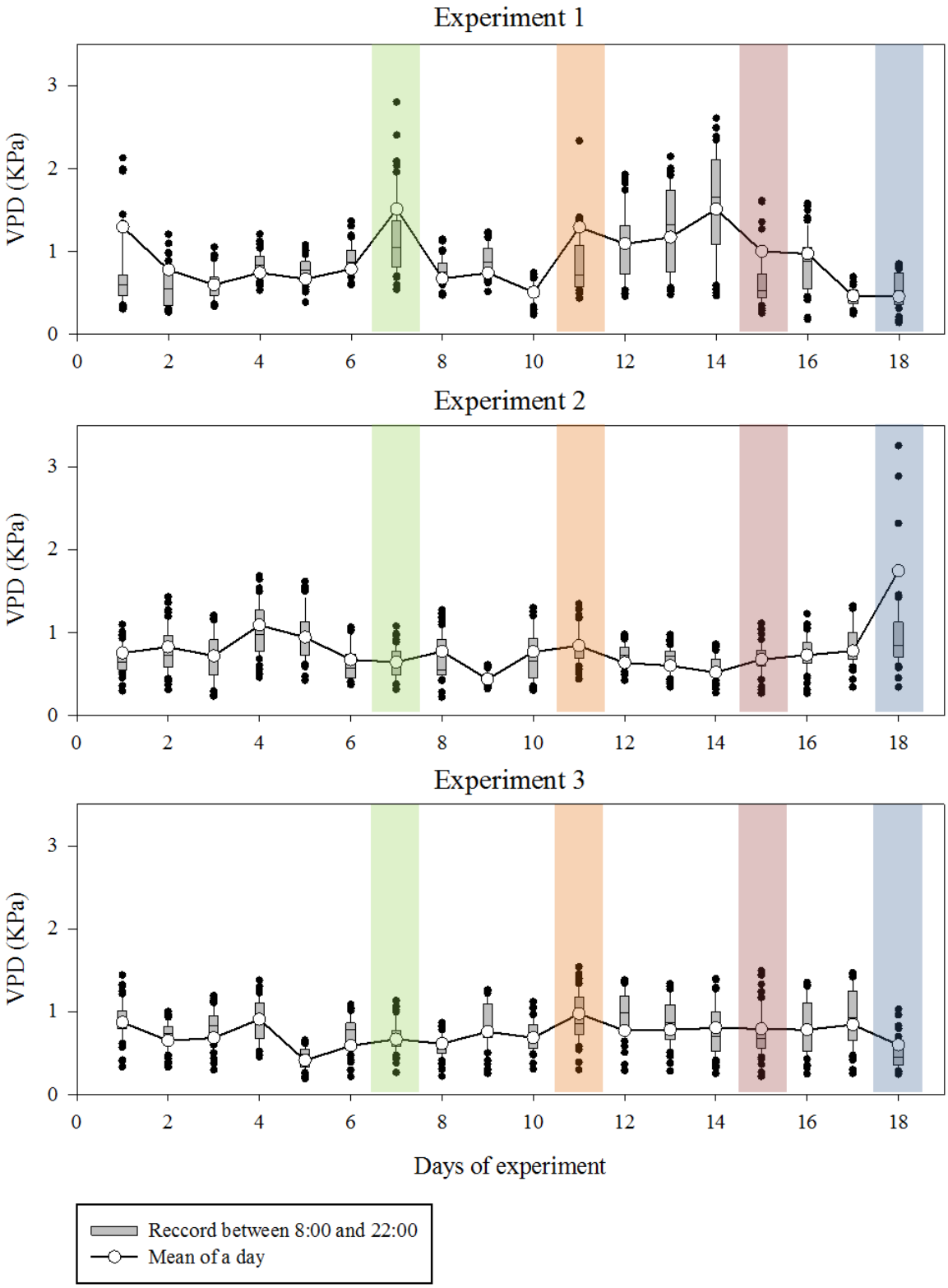


Figure 4.5- Evolution of the VPD during the three experiments. Average VPD per day and its distribution between 8:00 and 22:00 were calculated from Allen et al. (1998). Colored bars show the days of sampling, in well-watered (green), water deficit (orange), prolonged water deficit (red) and rehydratation (blue) conditions.

III- Résultats

III-1. Présentation générale des trois expérimentations

III-1.1. Conditions climatiques

Les données climatiques durant les trois expérimentations sont présentées en figure 4.5 et S4.1-2. Les conditions climatiques au sein de la serre expérimentale étant semi-contrôlées par un système de refroidissement de l'air de type "Cooling", l'amplitude des variations de VPD et de température est relativement faible au cours des différentes expérimentations. Cependant l'expérimentation n°1 présente des valeurs de VPD plus variables. De plus, au cours de cette expérimentation, les valeurs de VPD les plus élevées ont été enregistrées le jour de la récolte des plants en situation non contrainte (Jour 7) et durant toute la durée du déficit hydrique édaphique prolongé (Jour 11 à 16).

De la même manière, les données de rayonnement sont plutôt stables au cours des expérimentations mais certaines journées sont caractérisées par des valeurs très faibles. Pour l'expérimentation n°1, une baisse de rayonnement importante a eu lieu durant l'application du déficit hydrique (Jour 10), ainsi que le jour des prélèvements en déficit hydrique prolongé (Jour 15). Pour l'expérimentation n°2, une baisse de rayonnement est également survenue durant l'application du déficit hydrique (Jour 9), alors que lors de l'expérimentation n°3, seul le jour 6 est caractérisé par une baisse importante.

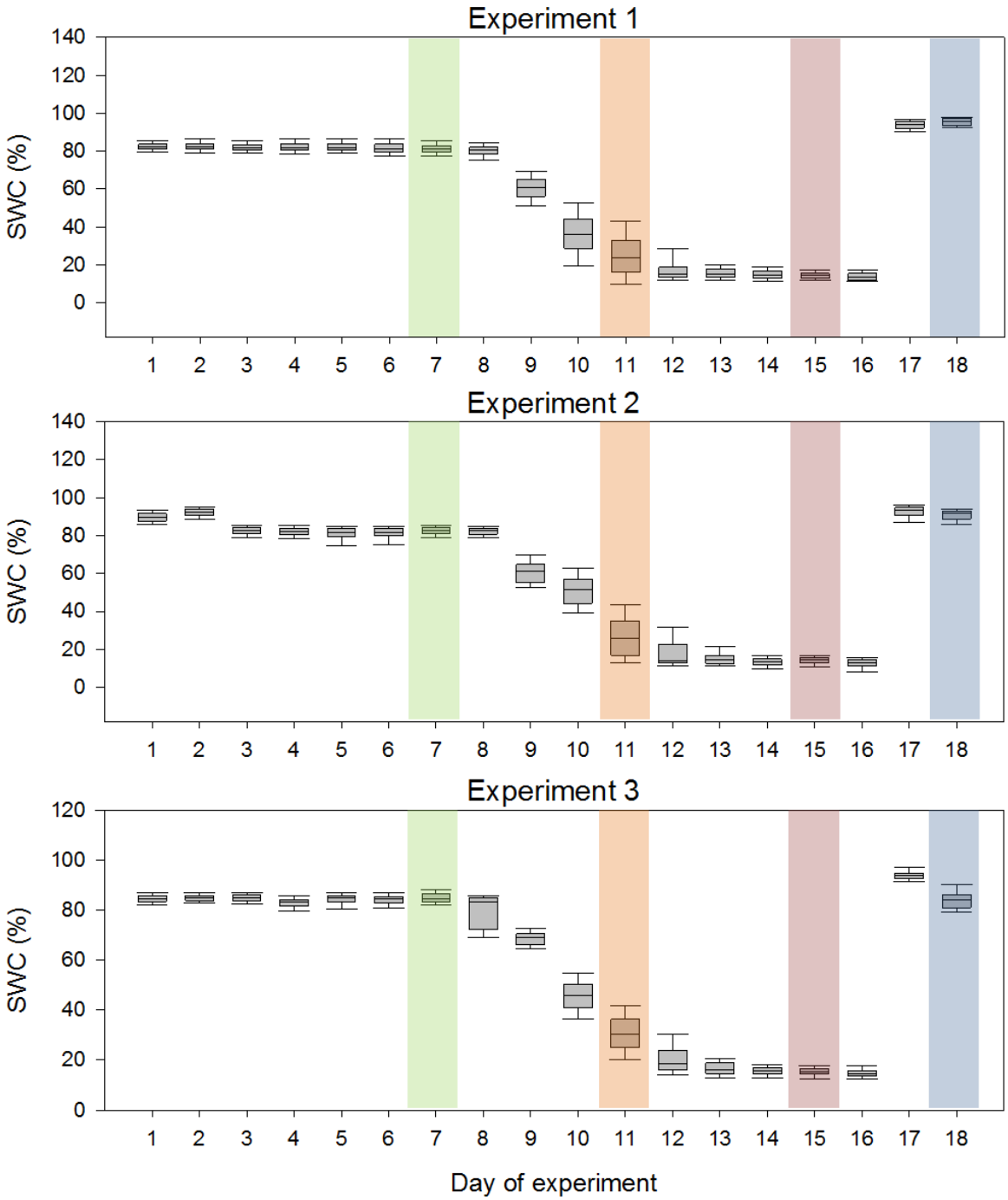


Figure 4.6- Box plot of the substrate water content (SWC) during the three experiments at 10:00 (just after the daily irrigation). Lines for each box plot show from top to bottom 90th, 75th, 50th, 25th, 10th percentile. Colored bars show the days of sampling in well-watered (green), water deficit (orange), prolonged water deficit (red) and rehydratation (blue) conditions.

III-1.2. Evolution de la teneur en eau du substrat

La teneur en eau du substrat (SWC), exprimée en pourcentage de la capacité de rétention maximale est présentée en figure 4.6. Le contrôle du statut hydrique permet clairement de distinguer les quatre phases de chaque expérimentation. Du jour 1 au jour 8, l'arrosage quotidien a permis de maintenir le statut hydrique du sol à plus de 80% de la capacité au champ. Du jour 8 au jour 11, l'arrêt de l'irrigation a permis de diminuer cette teneur jusqu'à atteindre une valeur de 20%, qui a été maintenue jusqu'au jour 16. Le jour 17, la teneur en eau du sol a été ramenée et maintenue jusqu'au dernier prélèvement à une valeur proche de 100%.

La phase de déshydratation des pots (jours 8 à 11) présente des différences de cinétique entre les expérimentations. Pour l'expérimentation n°1, la diminution globale de la teneur en eau du jour 10 au jour 11 est très faible. Il en est de même pour l'expérimentation n°2 entre les jours 9 et 10. Ces différences témoignent des différences climatiques observées précédemment et notamment au niveau du rayonnement (Figure S4.2).

Les teneurs en eau du substrat au jour 11 présentent une grande variabilité pour les trois expérimentations liée à des vitesses de transpiration différentes entre les génotypes, mais aussi à des surfaces foliaires variables. Pour ce point de prélèvement, les plantes ont été choisies de manière non aléatoire, afin de sélectionner pour chaque combinaison greffon/porte-greffe, les plantes ayant une teneur en eau du substrat la plus proche de 20% à 8:00 a.m..

Pour l'expérimentation n°3, la teneur en eau au jour 18 est plus faible qu'au jour 17, ce qui n'est pas observé pour les autres expérimentations. Cette observation est en lien avec un changement de stratégie expérimentale. En effet, une mesure de potentiel hydrique de base étant le matin du prélèvement en réhydratation, et du potentiel de tige au moment du prélèvement (13:00 à 14:30), le choix a été fait de ne pas arroser les plantes entre ces 2 temps de mesures de manière à pouvoir calculer la conductance hydraulique des plantes dans cette condition. Ces données ne seront pas présentées dans le manuscrit.

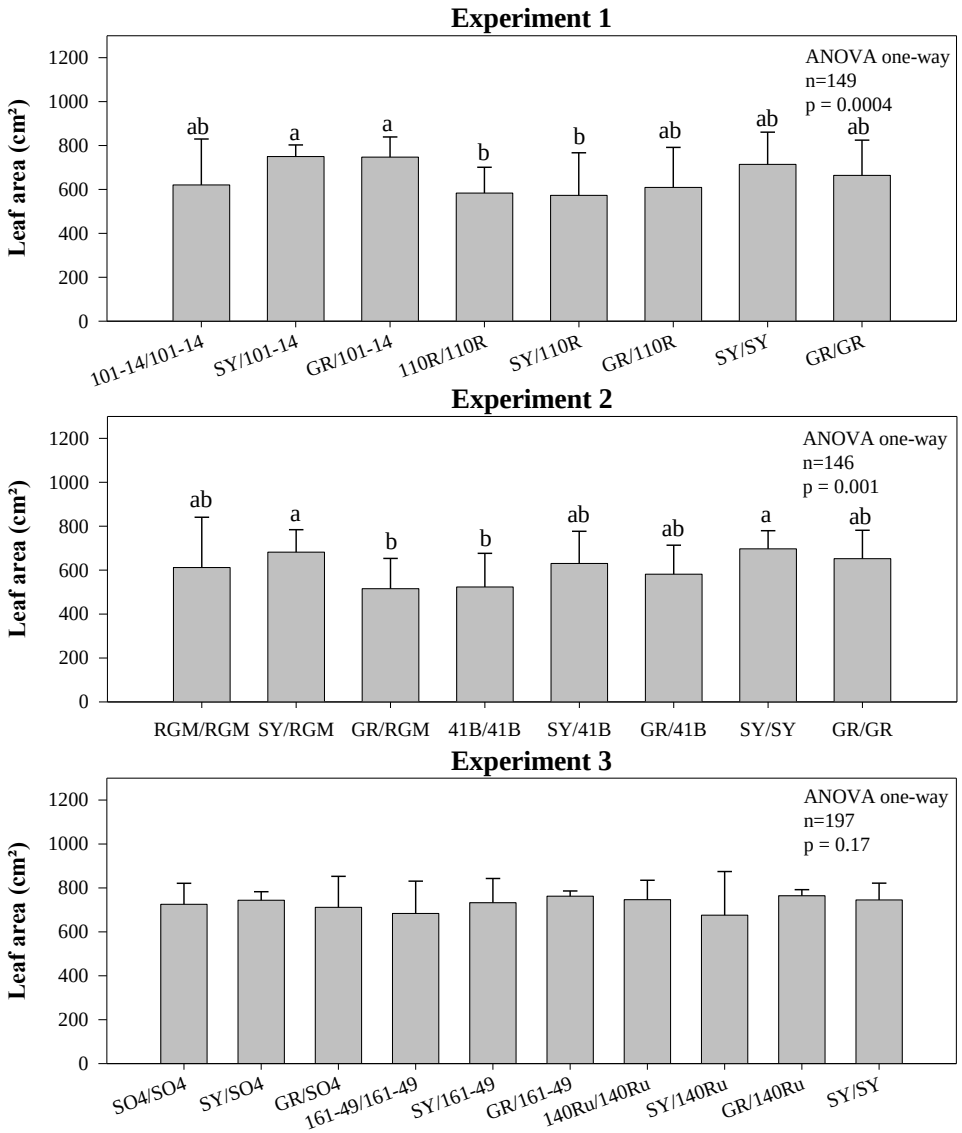


Figure 4.7- Leaf area per plant after the normalization process at day 0. Mean and standard deviation for each scion/rootstock combination. One-way ANOVA was performed for each experiment separately. p-value and number of plants are displayed. Combinations with same letter are not statistically different (Tukey-HSD).

III-1.3. Surface foliaire

La surface foliaire initiale des plants pour les différentes combinaisons greffon/porte-greffe étudiées est présentée en figure 4.7 pour les trois expérimentations. Pour l'expérimentation n°1 et n°2, des différences significatives sont observées pour la surface foliaire après normalisation. Pour l'expérimentation n°1, les combinaisons SY/101-14 et GR/101-14 présentent une surface foliaire moyenne plus importante que pour les combinaisons 110R/110R et SY/110R. Pour l'expérimentation n°2, les combinaisons greffon/porte-greffe SY/RGM et SY/SY présentent une surface foliaire plus importante que les combinaisons GR/RGM et 41B/41B. Pour l'expérimentation n°3, les surfaces foliaires des plants des combinaisons ne présentent pas de différence significative.

Pour les expérimentations n°1 et n°2, les différences observées proviennent de plantes n'ayant pas atteint la surface foliaire désirée avant l'étape de rognage. Pour la série n°3, le décalage dans le temps de l'expérimentation a permis d'obtenir des plantes plus grandes, ce qui se traduit par une meilleure homogénéisation de la surface foliaire.

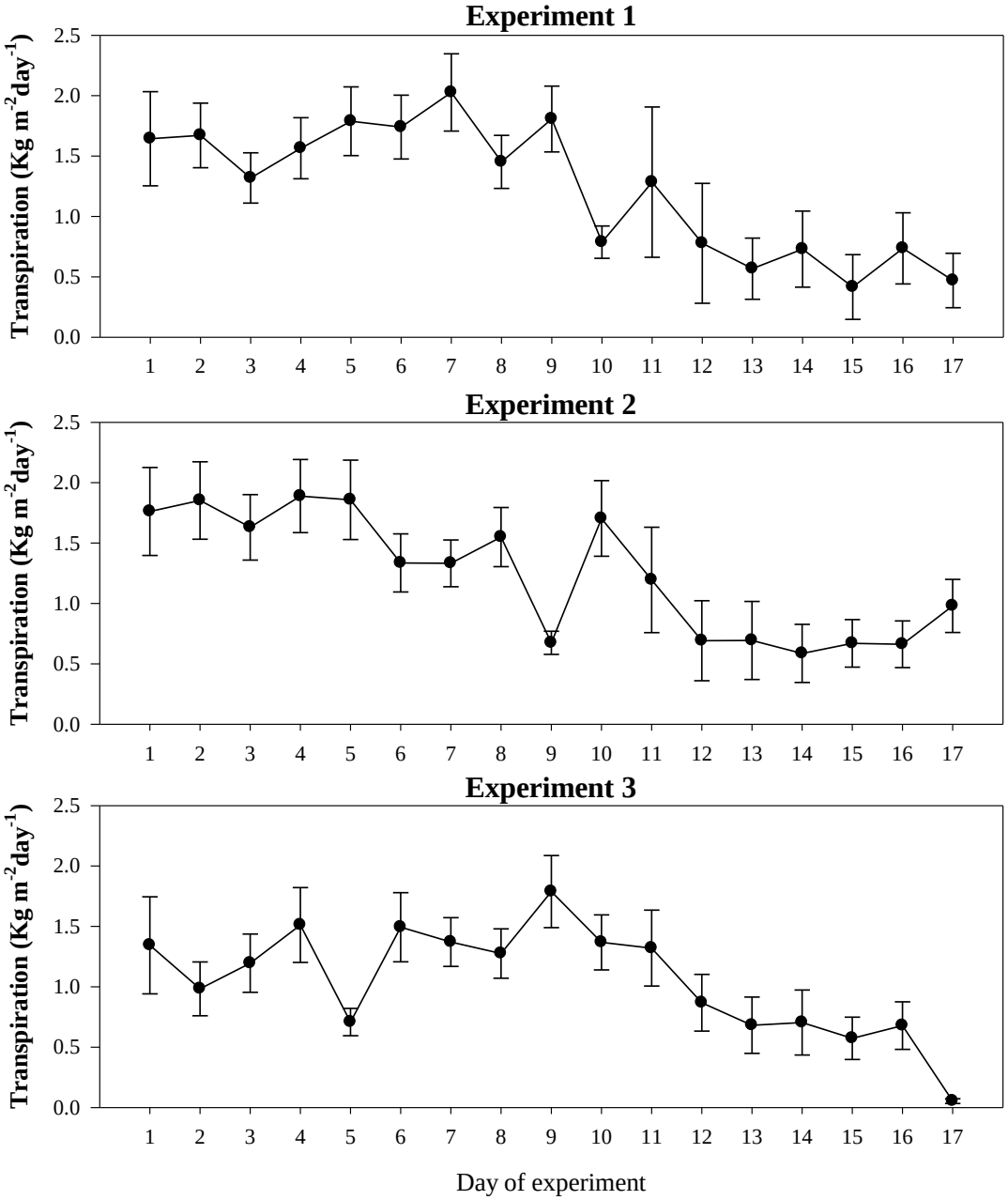


Figure 4.8- Average plant daily transpiration per day normalized by the plant leaf area for all the combinations for each experiment. Bars represent the standard deviation.

III-1.4. Transpiration de la plante entière

Les données de transpiration journalière par plante pour l'ensemble des combinaisons au cours des trois expérimentations sont présentées en figure 4.8. Globalement la transpiration des plantes en situation non contrainte (Jour 1 à 8) est supérieure à la transpiration en situation de déficit hydrique édaphique prolongé (Jour 11 à 16).

Une forte diminution de la transpiration journalière est observée les jours 10, 9 et 5 pour les expérimentations n°1, n°2 et n°3 respectivement. Ces baisses sont associées aux conditions climatiques avec pour les expérimentations n°1 et n°2 une forte diminution du rayonnement (Figure S4.2), et pour l'expérimentation n°3 une forte diminution du VPD (Figure 4.5).

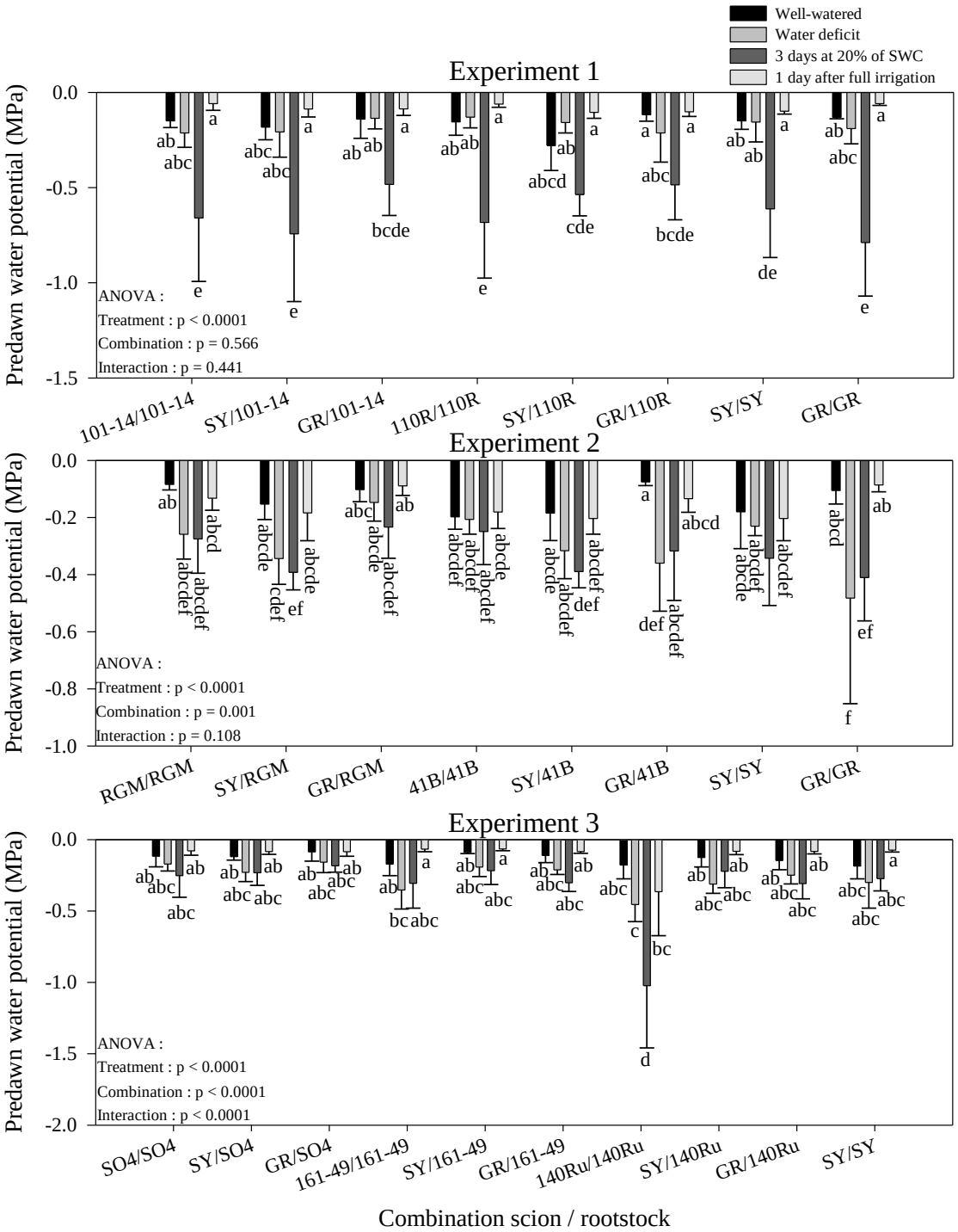


Figure 4.9- Predawn water potential recorded for the different sampling days. Mean and standard deviation of predawn leaf water potential is shown for each scion/rootstock combination. Two-way ANOVA was performed for each experiment separately. p-value is shown and combinations with same letter are not statistical different (n= 3-5; Tukey-HSD).

III-2. Caractéristiques transpiratoire des plantes le jour des prélèvements

III-2.1. Potentiel hydrique de base

Les données de potentiel de base déterminées le jour du prélèvement pour les conditions de déficit hydrique et de réhydratation et celles déterminées lors des mesures de conductance hydraulique en condition non contrainte et en contrainte prolongée sont présentées en figure 4.9. Une analyse de variance a été réalisée en fonction des combinaisons greffon/porte-greffe, de la condition hydrique de la mesure et de leur interaction, de manière séparée pour les trois expérimentations (Figure 4.9).

Au sein des trois expérimentations, le potentiel de base en situation non contrainte n'est pas significativement différent entre les combinaisons greffon/porte-greffe. Il en est de même pour le potentiel de base en condition de réhydratation.

L'évolution du potentiel de base lors du défit hydrique et du déficit hydrique prolongé présente de fortes divergences entre les trois expérimentations. Pour l'expérimentation n°1, le potentiel de base en situation de déficit hydrique n'est pas différent entre les combinaisons ni avec la situation non contrainte. Cependant pour la situation de déficit hydrique prolongé, une diminution significative est observée pour l'ensemble des combinaisons à l'exception des combinaisons GR/101-14 et GR/110R.

Pour les expérimentations n°2 et n°3, une légère diminution du potentiel de base est observée entre la condition non contrainte et la condition de déficit hydrique mais elle n'est significative que pour les combinaisons GR/41B et GR/GR. Le potentiel hydrique de base est maintenu en déficit hydrique prolongé pour l'ensemble des combinaisons par rapport à la situation de déficit hydrique à l'exception de la combinaison 140Ru/140Ru où elle diminue significativement.

Globalement, entre les traitements hydriques de faibles variations du potentiel hydrique de base sont observées. Les mesures de potentiel hydrique de base étant réalisées avant l'irrigation, la forte diminution observée pour l'expérimentation n°1 en situation de déficit hydrique prolongé, témoigne des conditions atmosphériques très stressantes observées précédemment.

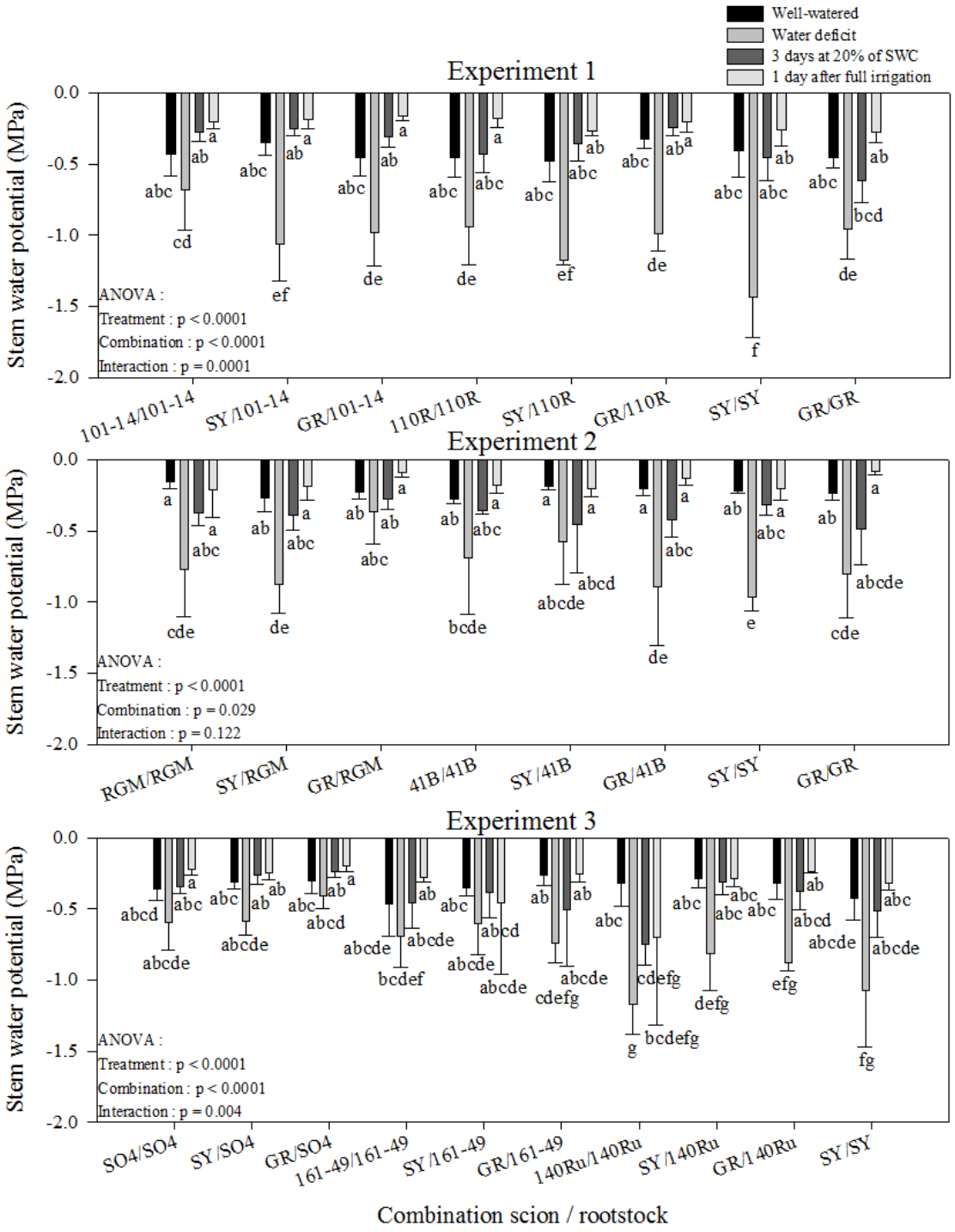


Figure 4.10- Stem water potential recorded for the different sampling days. Mean and standard deviation of stem water potential is shown for each scion/rootstock combination. Two-way ANOVA was performed for each experiment separately. p-value is shown and combinations with same letter are not statistical different (n= 3-5; Tukey-HSD).

III-2.2. Potentiel hydrique de tige

Les données de potentiel hydrique de tige lors des différents prélèvements sont présentées pour les trois expérimentations en figure 4.10. Une analyse de variance a été réalisée en fonction des combinaisons greffon/porte-greffe, du jour de prélèvement et de leur interaction, de manière séparée pour les trois expérimentations (Figure 4.10).

Au sein des trois expérimentations, le potentiel de tige à la récolte en situation non contrainte n'est pas significativement différents entre les combinaisons greffon/porte-greffe.

D'une manière générale, la situation de déficit hydrique entraine une diminution significative du potentiel hydrique de tige pour l'ensemble des combinaisons à l'exception de quelques-unes : 101-14/101-14 (Expérimentation n°1), GR/RGM, 41B/41B, SY/41B (Expérimentation n°2) et SO4/SO4, SY/SO4, GR/SO4, 161-49/161-49, SY/161-49 (Expérimentation n°3). En moyenne, le potentiel hydrique de tige lors de l'expérimentation n°1 est plus négatif (-1.02 MPa) que lors des expérimentations n°2 (-0.74MPa) et n°3 (-0.75MPa).

Pour les trois expérimentations, les potentiels hydriques de tige mesurés après un déficit hydrique prolongé et après un jour de réhydratation ne sont pas significativement différents. Ils ne sont pas non plus significativement différents de ceux enregistrés en situation non contrainte pour toutes les combinaisons, à l'exception de la combinaison 140Ru/140Ru (Expérimentation n°3).

En effet, pour certains individus de cette combinaison, l'application du déficit hydrique a entrainé un jaunissement foliaire ainsi que le dessèchement global du plant. De plus le point de greffe de ces plants présentait un cal d'une taille importante et des racines aériennes au niveau de la base du greffon étaient visibles. Pour ces plants, il est fort probable que le maintien du potentiel hydrique à des valeurs basses après trois jours de déficit hydrique et après un jour de réhydratation soit principalement dû à des difficultés de reprise au greffage connus pour ce génotype (Keller, 2010).

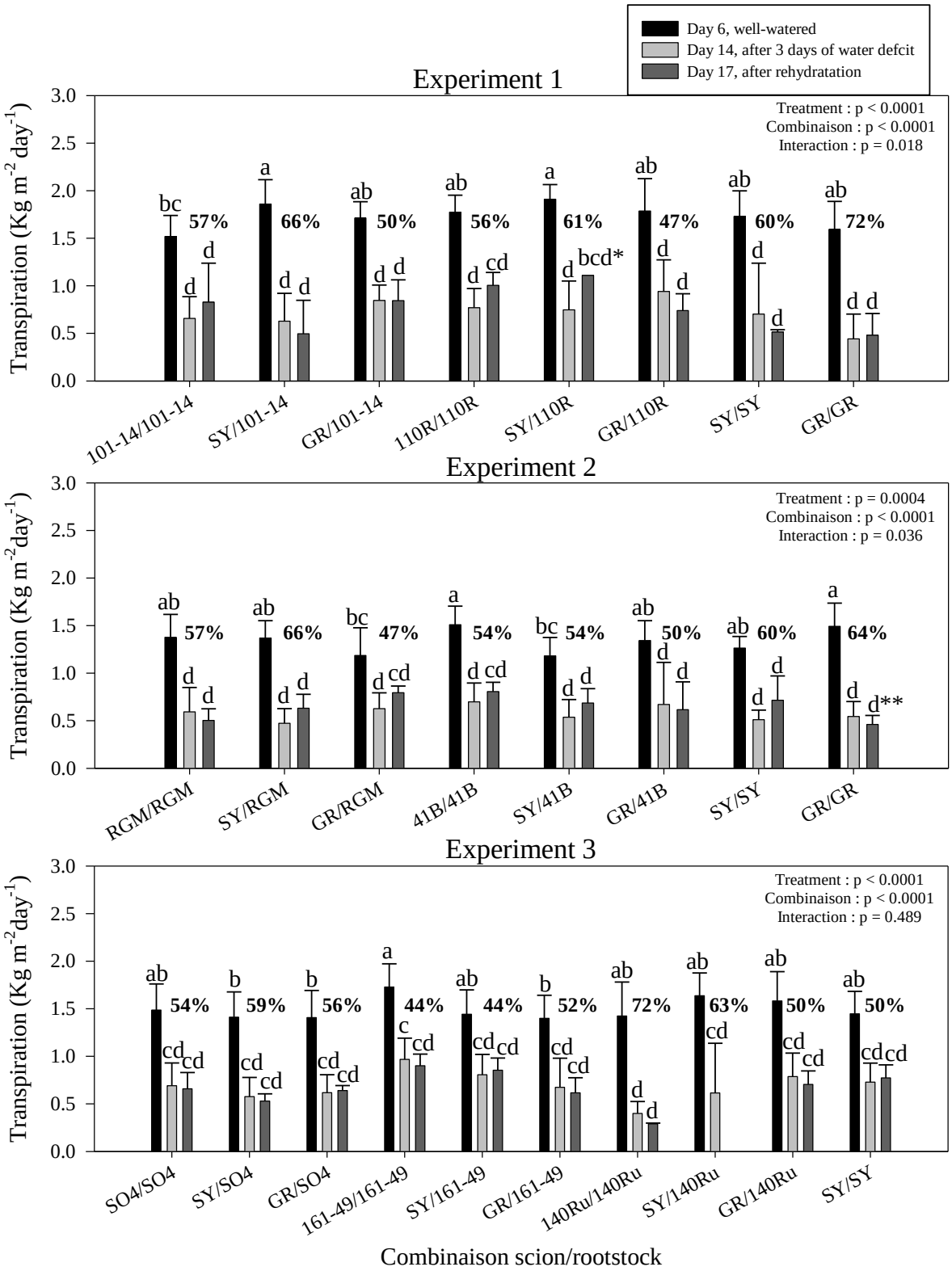


Figure 4.11- Effect of water treatment on scion/rootstock transpiration for the three experiments. Means and standard deviation are displayed for day 6 (n>11), day 14 (n>5) and day 17 (n = 3-6, n*=1, n**=2). Mean percentage of transpiration decrease between day 6 and day 14 is shown in bold. ANOVA result is shown for each experiment. Scion/rootstock combinations with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

III-2-3. La transpiration des plantes entières par combinaison

Les données de transpiration au jour 6 (sans contrainte hydrique), au jour 14 (après trois jours de déficit hydrique stabilisé) et au jour 17 (après réhydratation du sol) sont présentées pour les trois expérimentations et pour chaque combinaison greffon/porte-greffe en figure 4.11. Les résultats de l'analyse de variance, effectuée séparément pour les trois expérimentations, sur la transpiration en fonction de la combinaison greffon/porte-greffe, des traitements hydriques ainsi que de leur interaction sont également présentés en figure 4.11. Pour les trois expérimentations, l'analyse de variance permet d'observer des différences significatives entre les combinaisons greffon/porte-greffe, ainsi qu'entre les différents traitements hydriques.

En l'absence de contrainte hydrique, la transpiration des combinaisons SY/101-14 et SY/110R est significativement plus importante que celle observée pour la combinaison 101-14/101-14. La transpiration des combinaisons 41B/41B et GR/GR est significativement plus importante que celles des combinaisons GR/RGM et SY/41B. La transpiration de la combinaison 161-49/161-49 est plus importante que celle des combinaisons SY/SO4, GR/SO4 et GR/161-49.

Pour l'ensemble des combinaisons étudiées au cours des trois expérimentations, le déficit hydrique provoque une baisse significative de la transpiration. Pour les expérimentations n°1 et n°2, la baisse de transpiration est plus importante pour la combinaison GR/GR (72 et 64 %) que pour la combinaison SY/SY (59 et 60%). Pour les génotypes RGM, 101-14 et 110R en situation d'hétérogreffe avec le greffon SY, la transpiration est réduite de manière plus importante par rapport aux homogreffes correspondantes. L'inverse est observé pour ces génotypes lorsque le greffon est GR. Pour les génotypes 41B et 161-49, la situation d'hétérogreffe avec le greffon SY ne modifie pas le pourcentage de réduction de la transpiration entre la situation non contrainte et celle en déficit hydrique prolongé. Pour SO4, la situation d'hétérogreffe augmente le pourcentage de réduction de la transpiration alors que l'inverse est observé pour 140Ru quel que soit le génotype de greffon.

Lors de la réhydratation, la transpiration de chaque combinaison n'est pas significativement différente de celle en situation de contrainte hydrique prolongée.

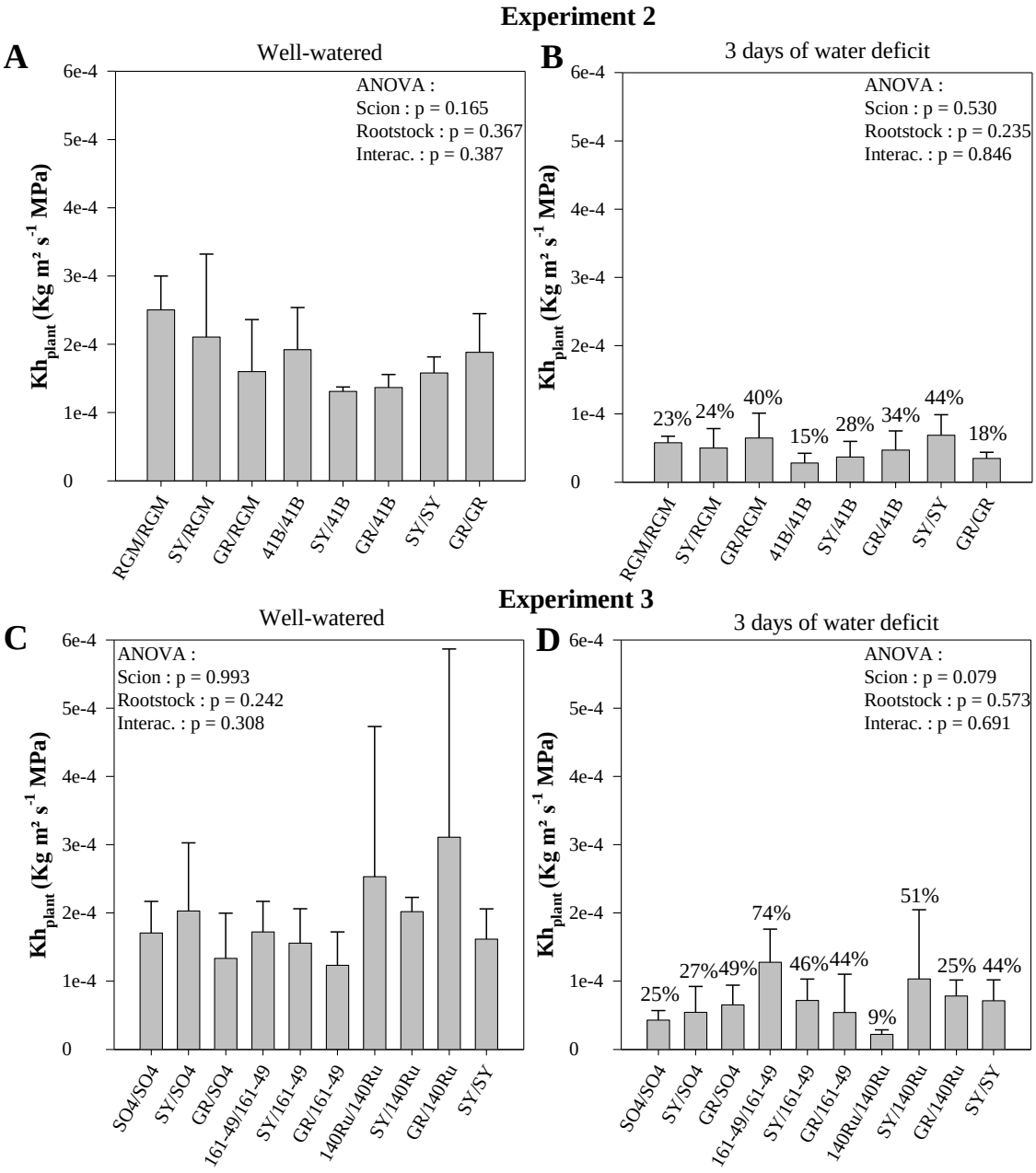


Figure 4.12- Scion/rootstock hydraulic conductance for experiment n°2 (A and B) and n°3 (C and D) in well-watered (A and C) and after three days of water deficit (B and D). Means and standard deviation are displayed for each scion/rootstock combination (n =3-5). ANOVA result is shown for each experiment and each treatment for scion, rootstock and interaction effect. Percentage of hydraulic conductance remaining after drought treatment is indicated for each combination (C and D).

III-2.4. La conductance hydraulique

La conductance hydraulique de la plante (Kh_{plant}) calculée selon la méthode des flux transpiratoires pour chaque combinaison au cours des expérimentations n°2 et n°3, en situation non contrainte et après un déficit hydrique prolongé, est présentée en figure 4.12. Pour chaque situation hydrique, une analyse de variance a été réalisée afin d'évaluer l'effet du greffon, du porte-greffe et de leur interaction (Figure 4.12). Une seconde analyse de variance est disponible dans les données supplémentaires afin de comparer pour chaque combinaison greffon/porte-greffe, l'effet de la contrainte hydrique et leur interaction de manière séparée pour les deux expérimentations (Tableau S4.I).

Pour les deux expérimentations et pour les deux situations hydriques étudiées, les analyses de variance ne permettent pas de séparer significativement la conductance hydraulique de la plante par le génotype de greffon, de porte-greffe, ainsi que par les combinaisons greffon/porte-greffe. Seul le traitement hydrique entraine une baisse significative de la conductance hydraulique de la plante (Tableau S4.I).

Le pourcentage de conductance hydraulique maintenue après le déficit hydrique prolongé est de 44% pour la combinaison SY/SY au cours des deux expérimentations (Figure 4.12). Pour la combinaison GR/GR ce pourcentage est beaucoup plus faible (18%). L'homogreffe 161-49/161-49 présente le rapport de conductance hydraulique en déficit hydrique prolongé le plus élevé (74%). Pour ce génotype en situation d'hétérogreffe, la réduction de conductance hydraulique est beaucoup plus forte, quel que soit le greffon. Pour les génotypes RGM et SO4, le pourcentage de conductance hydraulique maintenue change peu avec le greffon SY alors qu'il augmente avec le greffon GR. Pour le génotype 41B, les greffons SY et GR favorisent de manière semblable le maintien de conductance hydraulique restant après le déficit hydrique par rapport à l'homogreffe. Alors que pour 140Ru, cette augmentation est beaucoup plus marquée en situation d'hétérogreffe avec le greffon SY que pour le greffon GR.

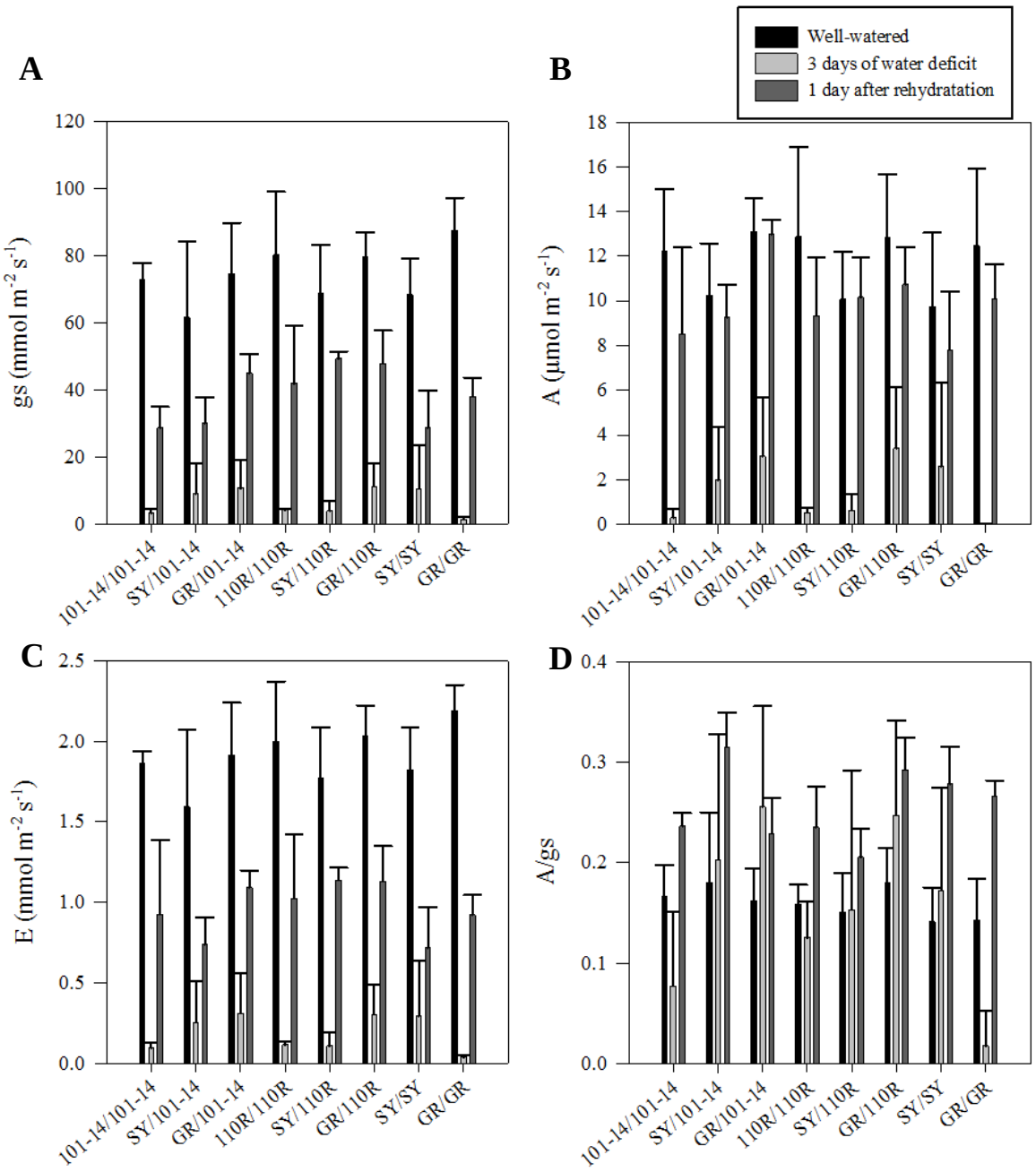


Figure 4.13- Stomatal conductance gs (A), carbon assimilation rate A (B), transpiration E (C) and intrinsic water use efficiency A/gs (D) for each scion/rootstock combination in experiment n°1 (n = 3-5).

III-2-5. Analyse des échanges gazeux des feuilles

Les données d'échange gazeux ne seront présentées que pour l'expérimentation n°1 (Figure 4.13) et l'analyse de variance réalisée sur le facteur combinaison greffon/porte-greffe, sur le traitement hydrique et sur leur interaction est disponible dans les données supplémentaires (Tableau S4.II).

Le flux transpiratoire (E), la conductance stomatique (g_s), ainsi que l'activité photosynthétique (A) et l'efficience intrinsèque de l'utilisation de l'eau (A/gs) présentent des variations significatives en fonction du traitement hydrique. L'analyse de variance permet d'établir trois groupes significatifs en fonction du traitement hydrique pour E, gs et A. Ces trois variables physiologiques sont significativement réduites après trois jours de déficit hydrique, puis augmentent lors de la réhydratation des plantes. Cependant, après réhydratation le niveau est intermédiaire aux situations non contrainte et de déficit hydrique prolongé. Pour A/gs seulement deux groupes significatifs sont établis par l'analyse de variance. En situation non contrainte et de déficit hydrique prolongé, A/gs est significativement plus faible qu'en situation de réhydratation.

Au sein de chaque traitement, l'analyse de variance ne permet pas de séparer significativement les combinaisons greffon/porte-greffe.

Les résultats obtenus pour les expérimentations n°1 s'étendent aux expérimentations n°2 et n°3, hormis pour A/gs. Pour l'expérimentation n°2, la valeur la plus élevée est obtenue après le déficit hydrique prolongé, alors que pour l'expérimentation n°3, la valeur maximale est obtenue après réhydratation. Dans tous les cas, A/gs en situation non contrainte présente la plus faible valeur.

Le rapport entre les valeurs enregistrées après trois jours de déficit hydrique ou après un jour de réhydratation et celles enregistrées en situation non contrainte est présenté en données supplémentaires (Tableau S4.III). Pour E, gs, et A, plus de 94% de réduction est observée pour les combinaisons 101-14/101-14, 110R/110R, SY/110R et GR/GR en condition de déficit hydrique prolongé alors que pour les autres combinaisons cette réduction est moindre (74 à 86 %). Cependant en condition de réhydratation, la récupération des trois paramètres physiologiques est plus importante pour les combinaisons 101-14/101-14, SY/101-14, SY/SY et GR/GR que pour les autres. Ces pourcentages de réduction ne peuvent pas être analysés statistiquement car les mesures ont été réalisées sur des plantes différentes au cours des 3 phases de l'expérimentation. Mais il semblerait que la capacité de fermeture et ré-ouverture stomatique varie en fonction de l'association greffon - porte-greffe.

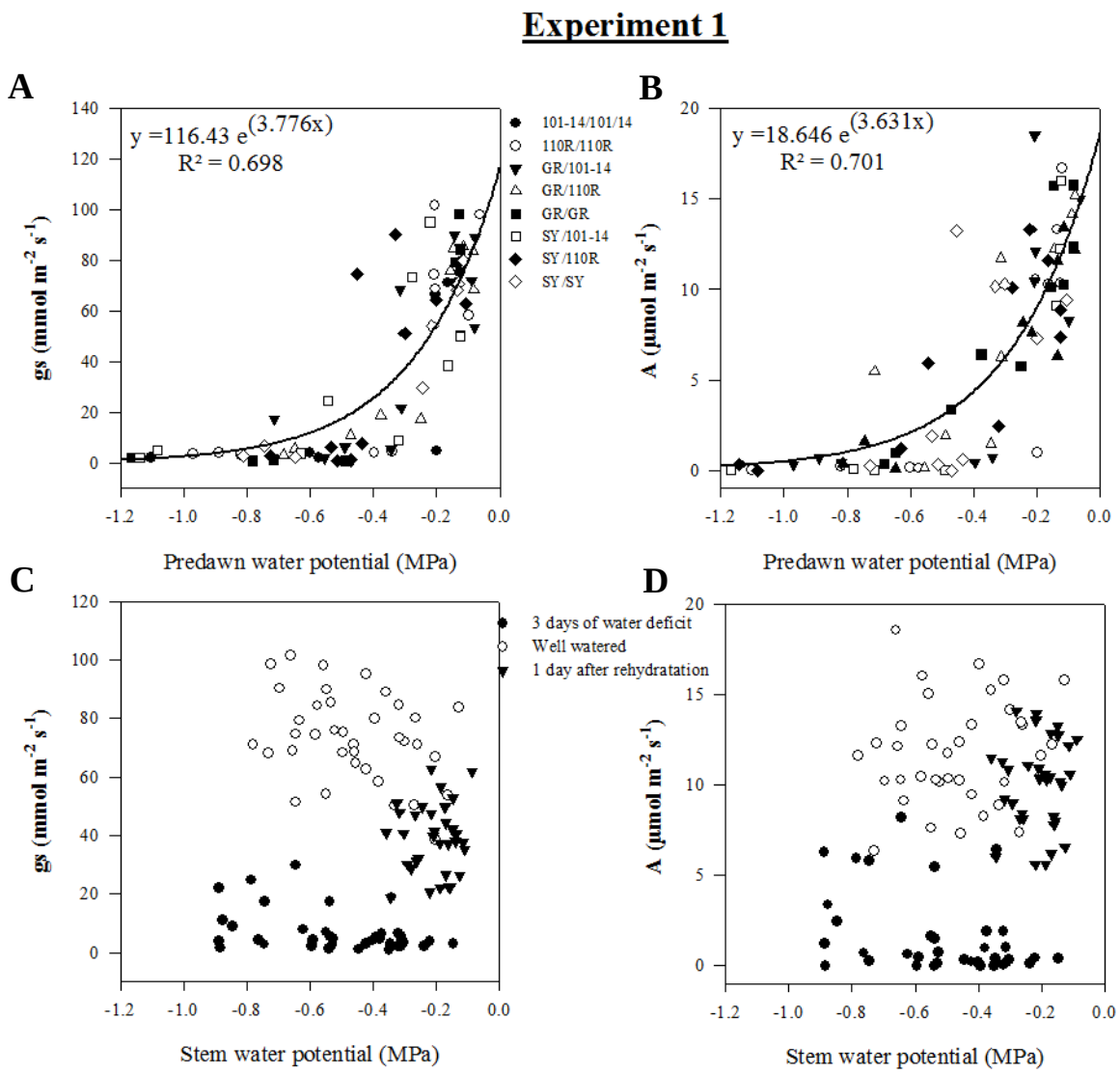


Figure 4.14- Relationships between stomatal conductance gs and predawn (A) and stem (C) water potential. Relationships between photosynthetic rate A and predawn (B) and stem (D) water potential for each scion/rootstock combination in experiment n°1. For A and B, only data in well watered conditions and after 3 days of water deficit are shown (n=75), whereas all data are shown in figure C and D (n=108). Legends for A and B, and for C and D are given between the two figures.

Pour les combinaisons 101-14/101-14 et 110R/110R, la fermeture stomatique est presque totale en situation de déficit hydrique prolongé (95 et 94%) et la réouverture stomatique après 24h de réhydratation est importante (50 et 49%). Pour ces deux porte-greffes, la situation hétéro-greffée modifie le pourcentage de fermeture stomatique par rapport à l'homogreffe, quel que soit le greffon pour 101-14, et uniquement avec le greffon GR pour le 110R. A l'inverse après réhydratation, la combinaison GR/101-14 présente une réponse différente par rapport à la combinaison 101-14/101-14 et SY/101-14. Pour les combinaisons SY/110R et GR/110R après réhydratation, l'ouverture stomatique est plus faible que chez l'homogreffe 110R/110R. De telles observations peuvent également être faites pour les expérimentations n°2 et n°3 (données non présentées).

Les relations entre les variables ont été établies et présentées sur la figure 4.14. La conductance stomatique ainsi que la photosynthèse sont fortement corrélées au potentiel hydrique du sol, quelle que soit la combinaison de génotype (Figure 4.14A et B). Ces grandeurs sont fortement liées en situation non contrainte et en situation de déficit hydrique prolongée. Par contre, la corrélation est beaucoup moins bonne lorsque les données de réhydratation sont prises en compte pour la conductance stomatique (données non présentées, R^2= 0,38), alors que pour la photosynthèse cette relation reste sensiblement identique (données non présentées, R^2= 0,60).

A l'inverse, il ne semble pas y avoir de corrélation entre le potentiel hydrique de tige et la conductance stomatique, ni même avec l'activité photosynthétique en situation non contrainte et de déficit hydrique prolongé (Figure 4.14C et D).

Pour les expérimentations n°2 et n°3, les corrélations établies pour l'expérimentation n°1 sont vérifiées, bien que moins bonnes (expérimentation n°2, R^2= 0.48 et R^2= 0.48, expérimentation n°3 R^2= 0.29 et R^2= 0.21, pour les relations respectives entre la conductance stomatique et l'activité photosynthétique avec le potentiel hydrique de base).

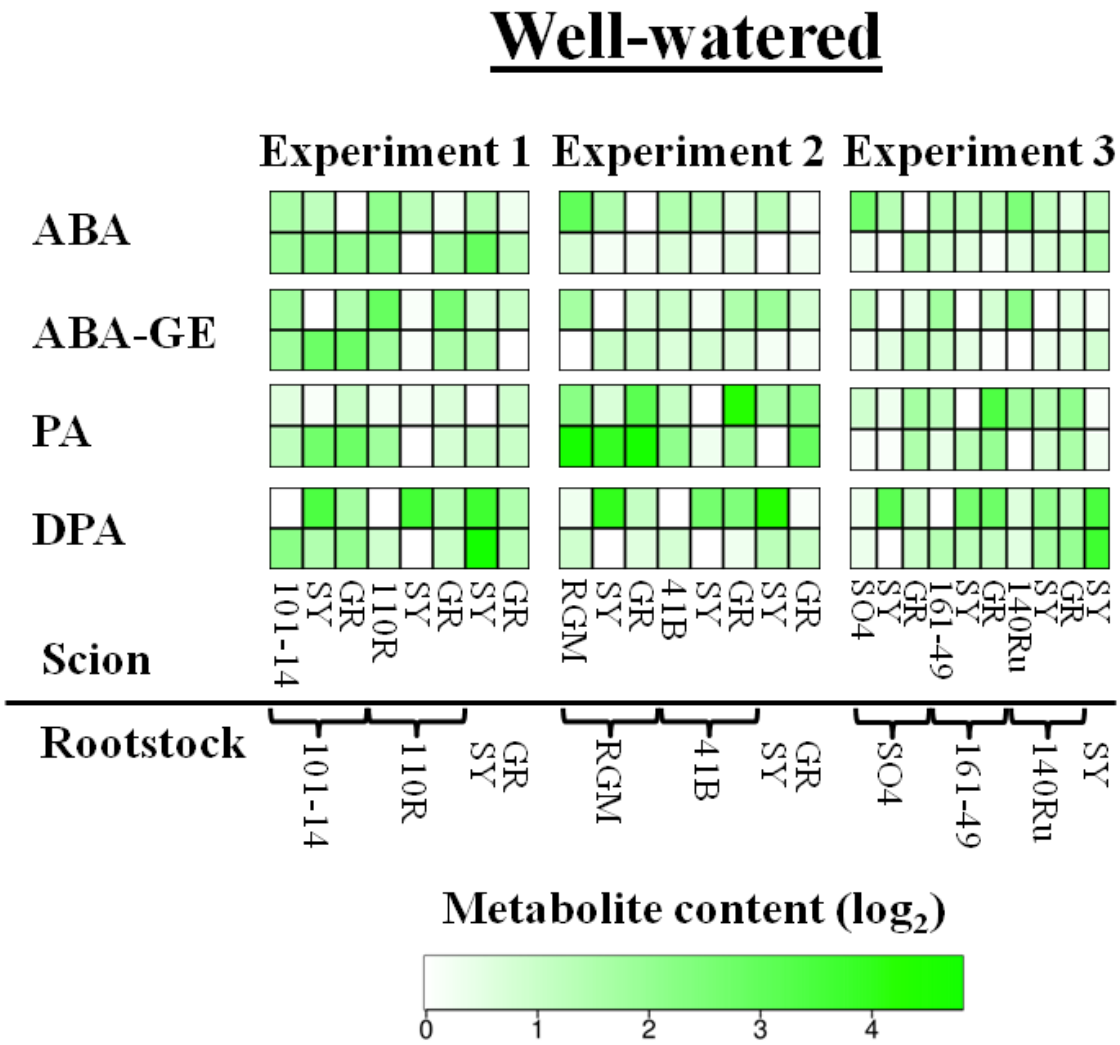


Figure 4.15- Heat maps for the content (ng mg^{-1} FW) in abscisic acid (ABA), ABA-glucose ester (ABA-GE), phaseic acid (PA) and dihydrophaseic ester (DPA) in the leaves and roots tips of 23 combinations of scion/rootstock in well-watered conditions. Green shade indicates the level of expression relative to the lowest value for each experiment and each tissue (n = 3).

III-3. Analyses des composés liés au métabolisme de l'ABA

III-3.1. Situation non contrainte

III-3.1.1. Présentation globale des métabolites

Les teneurs en composés liés au métabolisme de l'ABA dans les feuilles et les racines en situation non contrainte (Jour 7) sont présentées sous forme de cartes de chaleur (Figure 4.15). Les teneurs en métabolites racinaires étant plus de dix fois inférieures aux teneurs foliaires, la normalisation des données a été réalisée de manière indépendante pour chacun des tissus mesurés. Une analyse de variance permettant de caractériser l'effet du greffon, du porte-greffe et de leur interaction pour chaque expérimentation est disponible dans les données supplémentaires (Tableau S4.IV).

Les résultats de l'analyse de variance ne seront pas présentés en détail. Seuls les éléments majeurs seront décrits. Globalement, l'expérimentation n°1 présente le plus d'effets significatifs, avec l'ensemble des métabolites affectés de manière significative par le greffon ou par le porte-greffe. L"interaction greffon x porte-greffe n'est significative que pour la teneur en PA foliaire dans l'expérimentation n°3. De manière globale, les teneurs en métabolites sont largement dépendantes du greffon au niveau foliaire, alors que le porte-greffe joue un rôle majeur sur les teneurs racinaires.

Au niveau foliaire, l'ABA et le PA sont affectés significativement par le greffon et le porte-greffe dans les trois expérimentations, alors qu'au niveau racinaire les effets sont variables pour ces métabolites selon les expérimentations.

Les greffons 110R, RGM, SO4 présentent les plus fortes teneurs foliaires en ABA, et sont significativement différents des génotypes SY et GR. Le greffon GR présente des teneurs en ABA plus faibles que le greffon SY, mais cet effet n'est significatif que dans l'expérimentation n°1. Au niveau racinaire, la teneur en ABA est significativement plus élevée pour le porte-greffe SY en comparaison des porte-greffes 101-14, 110R, GR au cours de l'expérimentation n°1 et en comparaison du 161-49 au cours de l'expérimentation n°3.

La teneur en ABA-GE foliaire est significativement affectée par le greffon et le porte-greffe au cours des expérimentations n°1 et n°3. Les greffons 110R, 161-49 et 140Ru présentent les teneurs en ABA-GE largement supérieures aux greffons SY et GR. Au niveau racinaire, la teneur en ABA-GE est affectée significativement par le porte-greffe lors de l'expérimentation n°1, sans aboutir à une séparation statistique des génotypes.

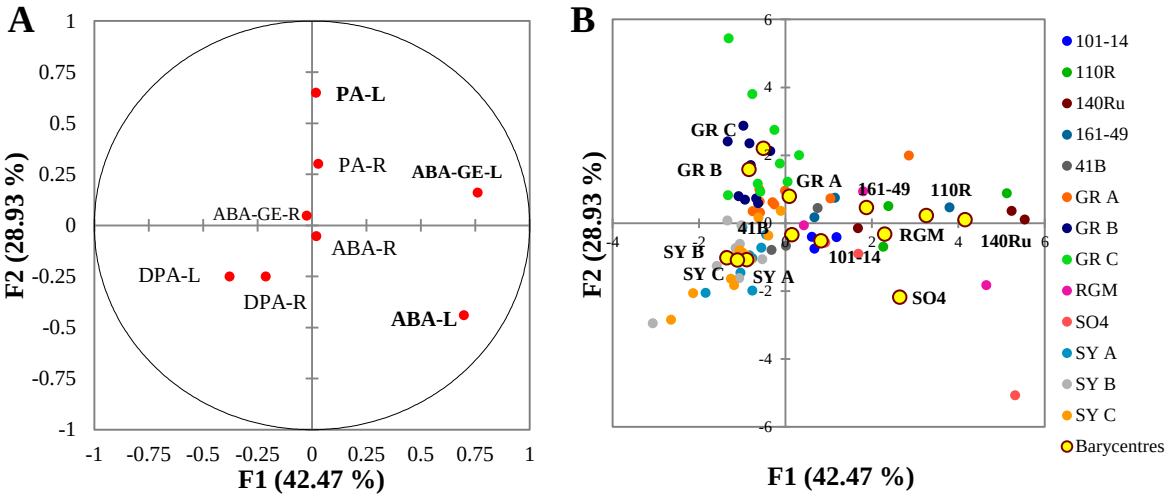


Figure 4.16– Discriminant function analysis on « scion genotype » variable. The analysis was performed on ABA, ABA-GE, PA and DPA metabolites in leaves (-L) and root tips (-R) in well-watered conditions. A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The metabolites names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

La teneur en PA foliaire est significativement plus importante pour le greffon GR par rapport aux greffons SY, 110R et 41B pour les trois expérimentations. Au niveau racinaire, un effet significatif est retrouvé pour l'expérimentation n°1 et n°2. Les porte-greffes RGM et 101-14 présentent les valeurs les plus élevées par rapport aux autres porte-greffes.

La teneur en DPA foliaire n'est affectée significativement par le greffon que pendant l'expérimentation n°1. Cependant dans toutes les expérimentations, le greffon SY possède les valeurs les plus importantes. Les mêmes conclusions peuvent être établies au niveau racinaire, avec un effet significatif du porte-greffe pour les expérimentations n°1 et n°2.

III-3.1.2. Analyses factorielles discriminantes

Les teneurs en métabolites liées au métabolisme de l'ABA en situation non contrainte déterminées au cours des trois expérimentations ont été soumises à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du greffon" (Figure 4.16). Au total 71,4 % de la variabilité est représentée par les axes F1 et F2 (Figure 4.16A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par la teneur en ABA et en ABA-GE foliaire. L'axe F2 est principalement expliqué du côté positif par la teneur en PA foliaire.

La dispersion des individus permet de discriminer principalement trois groupes de greffons (Figure 4.16B). L'ensemble des combinaisons avec le greffon SY se regroupent du côté négatif des axes F1 et F2 au cours des trois expérimentations. L'ensemble des combinaisons avec le greffon GR sont distribuées le long de l'axe F2 dans sa partie positive pour les trois expérimentations. Les combinaisons avec les greffons RGM, 161-49, 110R et 140Ru se distribuent le long de l'axe F1 dans sa partie positive. Les combinaisons avec les greffons 101-14 et 41B se positionnent au centre du plan factoriel, alors que celles avec le greffon SO4 se situent dans la partie positive de l'axe F1 et négative de l'axe F2.

Cette analyse montre que la discrimination des greffons se fait majoritairement grâce aux teneurs foliaires. La séparation entre les greffons SY et GR est principalement due à la teneur en PA foliaire. Pour les greffons RGM, SO4, 161-49, 110R et 140Ru la teneur en ABA et en ABA-GE foliaire sont les principaux facteurs de discrimination. Les greffons 101-14 et 41B semblent avoir des teneurs hormonales proches des greffons SY et GR.

Les teneurs en métabolites précédemment décrites ont également été soumises à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du porte-greffe" (Figure 4.17). Au total 83,47 % de la variabilité est représentée par les axes F1 et F2 (Figure 4.17A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par la teneur en ABA et DPA racinaire. L'axe F2 qui explique seulement 7% de la variabilité est principalement déterminé du côté positif par la teneur en ABA-GE racinaire.

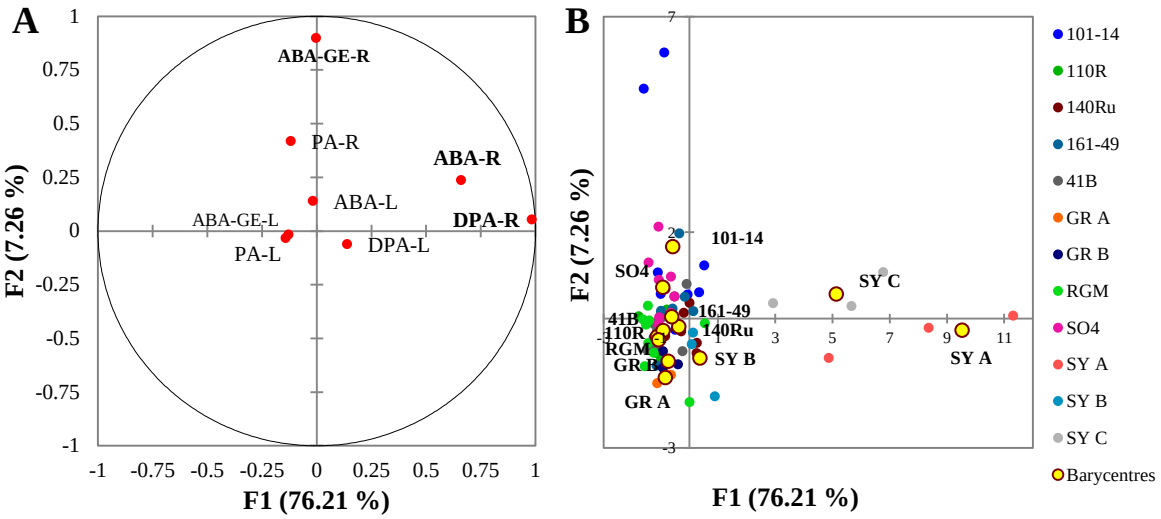


Figure 4.17– Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. The analysis was performed on ABA, ABA-GE, PA and DPA metabolites in leaves (-L) and root tips (-R) in well-watered conditions. A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The metabolites names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

La dispersion des individus permet principalement de séparer deux groupes de combinaisons en fonction du porte-greffe (Figure 4.17B). Les combinaisons avec le porte-greffe SY se positionnent le long de l'axe F1 du côté positif pour des expérimentations n°1 et n°3. L'ensemble des combinaisons avec les autres porte-greffes se distribuent le long de l'axe F2, avec du côté positif les porte-greffes 101-14 et SO4, et du côté négatif les porte-greffes GR des deux expérimentations et SY de l'expérimentation n°2. Les combinaisons avec les porte-greffes RGM, 161-49, 41B, 110R et 140Ru se positionnent plutôt au centre du plan factoriel.

Cette analyse montre que la discrimination des combinaisons selon les porte-greffes est principalement liée aux teneurs en métabolites racinaires. La teneur en ABA et DPA racinaire permet de discriminer le génotype SY. Les autres porte-greffes se différencient très peu, mais l'ABA-GE racinaire est le principal facteur de discrimination.

Finalement une analyse discriminante a également été réalisée à partir des données métaboliques pour les trois expérimentations sur la variable "Combinaison greffon/porte-greffe" (Figure S4.3). Celle-ci ne sera pas décrite, mais les résultats vont dans le même sens que les deux analyses précédentes (Figure 4.16 et 4.17). L'ABA et l'ABA-GE au niveau foliaire permettent de discriminer les homogreffes 101-14, SO4, 161-49, 41B, 110R et 140Ru des homogreffes SY et GR. En association avec le greffon SY ou GR, les hétérogreffes sont proches des homogreffes SY/SY et GR/GR. L'effet est plus marqué avec le greffon GR qu'avec le greffon SY. On remarque cependant que la combinaison GR/110R est très peu affectée par le génotype du greffon.

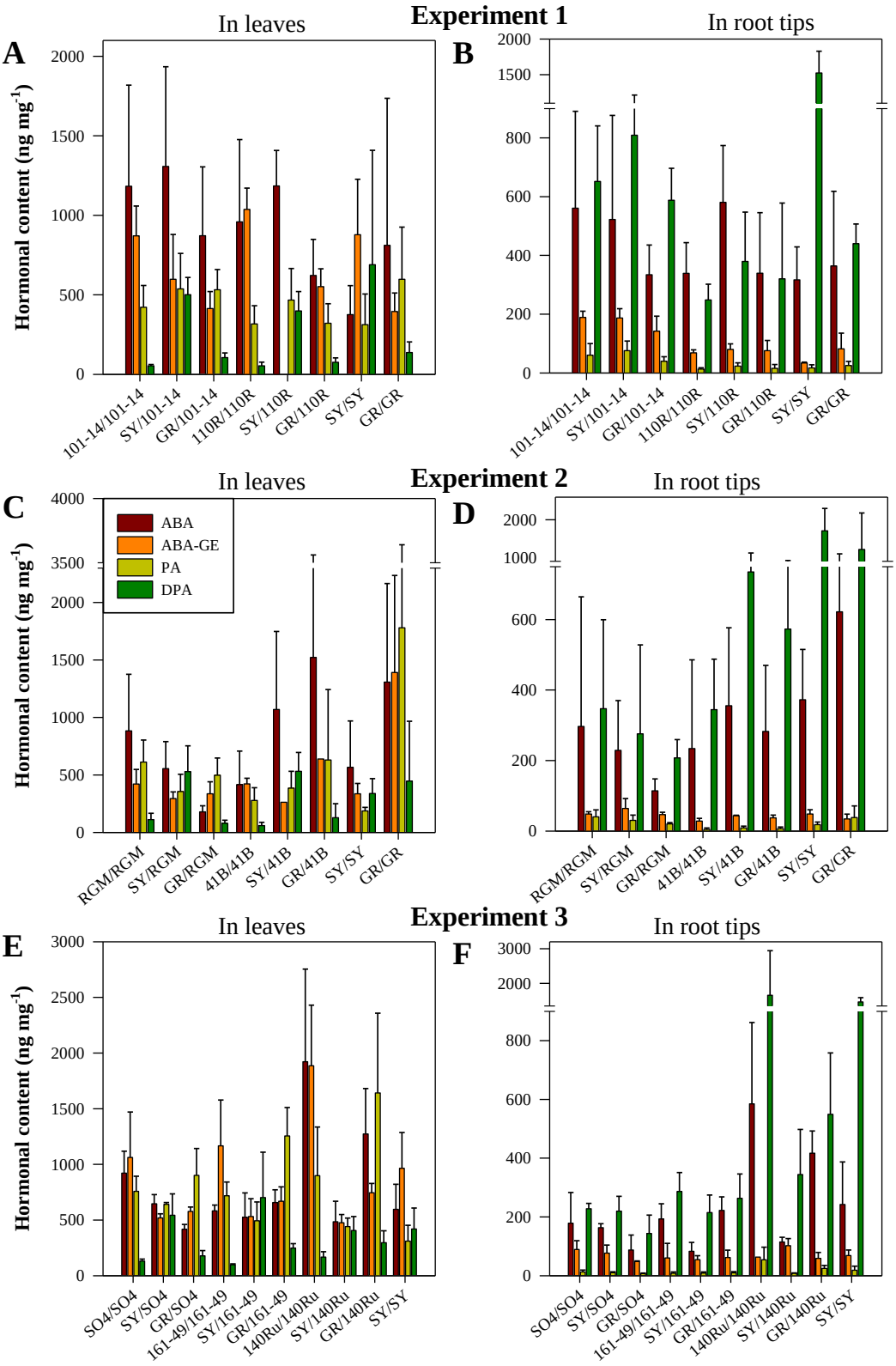


Figure 4.18- Bar chart of abscisic acid (ABA), ABA-glucose ester (ABA-GE), phaseic acid (PA) and dihydrophaseic ester (DPA) content by fresh biomass in the leaves (A, C, E) and roots tips (B, D, F) of the 23 scion/rootstock combinations in water deficit conditions for experiment n°1 (A, B), n°2 (C, D) and n°3 (E, F). Mean and standard deviation is shown for each combination (n=3). Colors legend is show in figure C.

III-3.2. Situation de déficit hydrique

III-3.2.1. Présentation globale

La teneur en composés liés au métabolisme de l'ABA en situation de déficit hydrique (Jour 11) est présentée sous forme d'histogramme pour les trois expérimentations (Figure 4.18). Une analyse de variance a également été réalisée sur chaque tissu séparément afin d'identifier un effet du traitement hydrique, de la combinaison greffon/porte-greffe et de leur interaction (Tableau S4.V-VII).

Pour les trois expérimentations, la teneur en ABA foliaire et racinaire, ainsi que celle en ABA-GE, en PA et en DPA racinaire sont significativement affectées par le déficit hydrique. Pour l'expérimentation n°1, les teneurs en PA et en DPA foliaire sont également affectées de manière significative par le traitement hydrique.

La teneur en ABA foliaire augmente en moyenne d'un facteur de 4,3 en situation de déficit hydrique alors que la teneur racinaire augmente d'un facteur de 22,6. Pour l'expérimentation n°3, un effet significatif de la combinaison et de son interaction avec le traitement hydrique est retrouvé pour la teneur en ABA foliaire et racinaire. Dans les deux cas, les combinaisons 140Ru/140Ru et GR/140Ru présentent les plus fortes teneurs en ABA.

Au niveau foliaire, la teneur en ABA-GE est soumise à un effet significatif de la combinaison pour les expérimentations n°1 et n°3. Cet effet discrimine principalement les combinaisons 161-49/161-49, 110R/110R et 140Ru/140Ru qui possèdent les plus fortes teneurs en ABA-GE foliaire. Au niveau racinaire, le traitement hydrique induit en moyenne une augmentation de la teneur en ABA-GE d'un facteur de 3. Pour l'expérimentation n°1, un effet significatif est observé pour la combinaison et pour son interaction avec le déficit hydrique. Ces effets mettent en avant la forte accumulation en ABA-GE racinaire pour les combinaisons 101-14/101-14, SY/101-14 et GR/101-14.

Au niveau foliaire, la teneur en PA est significativement affectée par la combinaison greffon/porte-greffe pour les expérimentations n°2 et n°3. Dans les deux cas, la combinaison SY/SY présente les plus faibles teneurs, alors que les combinaisons GR/161-49, GR/41B, GR/140Ru et GR/GR présentent les teneurs les plus élevées. Au niveau racinaire, une augmentation moyenne d'un facteur de 5,3 est observée pour les teneurs en PA. Un effet significatif de la combinaison est observé, et un effet d'interaction avec le traitement hydrique est retrouvé pour les expérimentations n°1 et n°3. Globalement les combinaisons RGM/RGM, 101-14/101-14, SY/101-14, GR/101-14 et 140Ru/140Ru présentent les teneurs en PA racinaire les plus élevées.

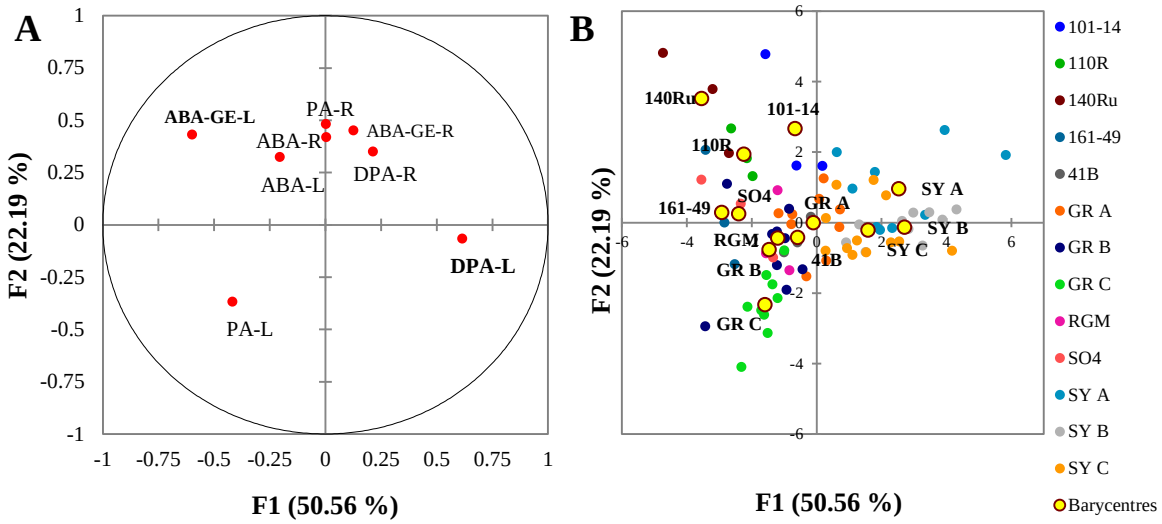


Figure 4.19- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable. The analysis was performed on ABA, ABA-GE, PA and DPA metabolites in leaves (-L) and root tips (-R) in water deficit conditions. A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The metabolites names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

La teneur en DPA foliaire est significativement affectée par les combinaisons pour les expérimentations n°1 et n°3. Mais globalement pour les trois expérimentations, la combinaison SY/SY présente les plus fortes teneurs. De plus, toutes les hétérogreffes avec le greffon SY présentent des teneurs en PA foliaire plus importante que les homogreffes correspondantes ou que les hétérogreffes avec le greffon GR. Au niveau racinaire, la teneur en DPA augmente en moyenne de 7,3 en déficit hydrique. Pour les trois expérimentations, un effet significatif de la combinaison et de son interaction avec le traitement hydrique est mis en évidence. De la même manière qu'au niveau foliaire, la combinaison SY/SY possède la plus forte teneur en DPA racinaire, cependant pour l'expérimentation n°3, la combinaison 140Ru/140Ru présente une teneur similaire.

III-3.2.2. Analyses factorielles discriminantes

Les teneurs en métabolites étudiés en situation de déficit hydrique ont également été soumises à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du greffon" conjointement pour les trois expérimentations (Figure 4.19). Au total 72,75 % de la variance est expliquée par les axes F1 et F2 (Figure 4.19A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par la teneur en DPA foliaire et du côté négatif par la teneur en ABA-GE foliaire. L'axe F2 est principalement expliqué du côté positif par la teneur en ABA, ABA-GE et PA racinaire et du côté négatif par la teneur en PA foliaire.

La distribution des individus permet de discriminer principalement quatre groupes de combinaisons en fonction du greffon (Figure 4.19B). Du côté positif de l'axe F1 se regroupent les combinaisons avec le greffon SY pour les trois expérimentations. Du côté négatif des axes F1 et F2 se regroupent les combinaisons avec le greffon GR pour les trois expérimentations, ainsi que celles avec les greffons RGM et 41B. Les combinaisons avec les greffons 101-14, 110R et 140Ru se regroupent du côté négatif de l'axe F1 et du côté positif de l'axe F2. Les combinaisons avec les greffons SO4 et 161-49 se répartissent le long de l'axe F1 dans sa partie négative.

Cette analyse en situation de déficit hydrique permet de discriminer les combinaisons selon les greffons d’une manière très proche à celle obtenue en situation non contrainte (Figure 4.16). La discrimination des génotypes se fait majoritairement par les composés de stockage et de dégradation plutôt que sur les teneurs en ABA. Les teneurs hormonales racinaires apparaissent jouer un rôle plus important en situation de déficit hydrique qu'en situation non contrainte. Le greffon 101-14 est discriminé dans cette analyse alors que ce n’était pas le cas en situation non contrainte. L'inverse est observé pour le génotype RGM entre les deux situations hydriques.

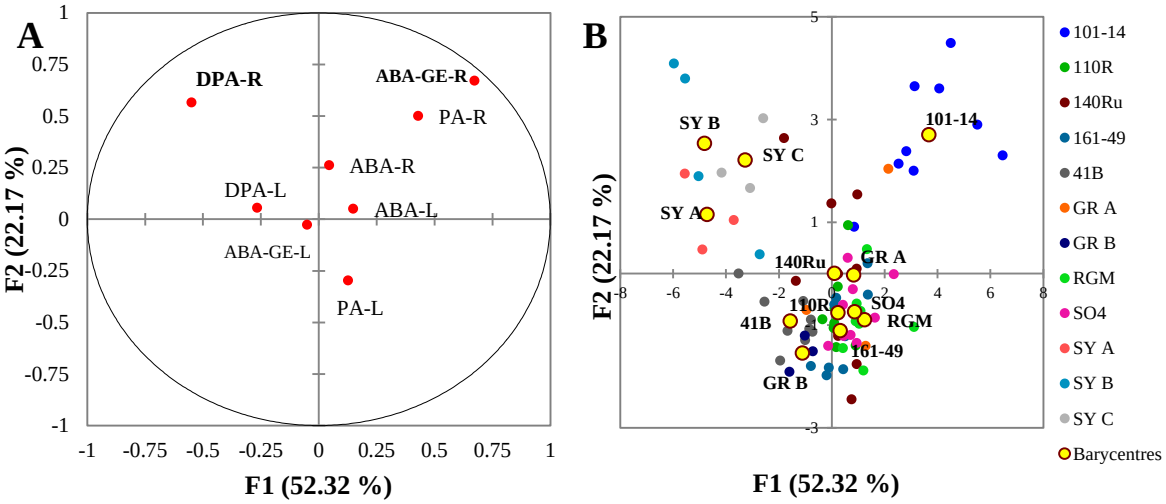


Figure 4.20 –Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. The analysis was performed on ABA, ABA-GE, PA and DPA metabolites in leaves (-L) and root tips (-R) in water deficit conditions. A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The metabolites names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

Les données de teneur en métabolites déterminées en situation de déficit hydrique ont également été soumises à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du porte-greffe" conjointement pour les trois expérimentations (Figure 4.20). Au total 74,49 % de la variance est expliquée par les axes F1 et F2 (Figure 4.20A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par la teneur en ABA-GE et PA racinaire, alors que du côté négatif l'axe est principalement expliqué par la teneur en DPA racinaire. L'axe F2 est principalement expliqué du côté positif par la teneur en ABA-GE et DPA racinaire.

La distribution des individus permet de discriminer principalement trois groupes de combinaisons en fonction des porte-greffes (Figure 4.20B). Du côté négatif des axes F1 et F2 se regroupent les combinaisons avec le porte-greffe SY des trois expérimentations. Du côté positif des axes F1 et F2 se positionne les combinaisons avec le porte-greffe 101-14. Le long de l'axe F2 dans sa partie négative se regroupent l'ensemble des autres combinaisons.

Cette analyse en situation de déficit hydrique ne permet pas de bien discriminer les combinaisons en fonction des porte-greffes. Les résultats observés sont similaires à ceux observés en situation non contrainte (Figure 4.20) avec un meilleur regroupement des combinaisons avec le porte-greffe SY pour les trois expérimentations et une discrimination plus forte des combinaisons avec le porte-greffe 101-14. Pour ce dernier, la teneur en ABA-GE racinaire joue un rôle majeur dans sa discrimination et comme au niveau foliaire (Figure 4.19) les teneurs en ABA ne semblent pas contribuer fortement à la discrimination des porte-greffes.

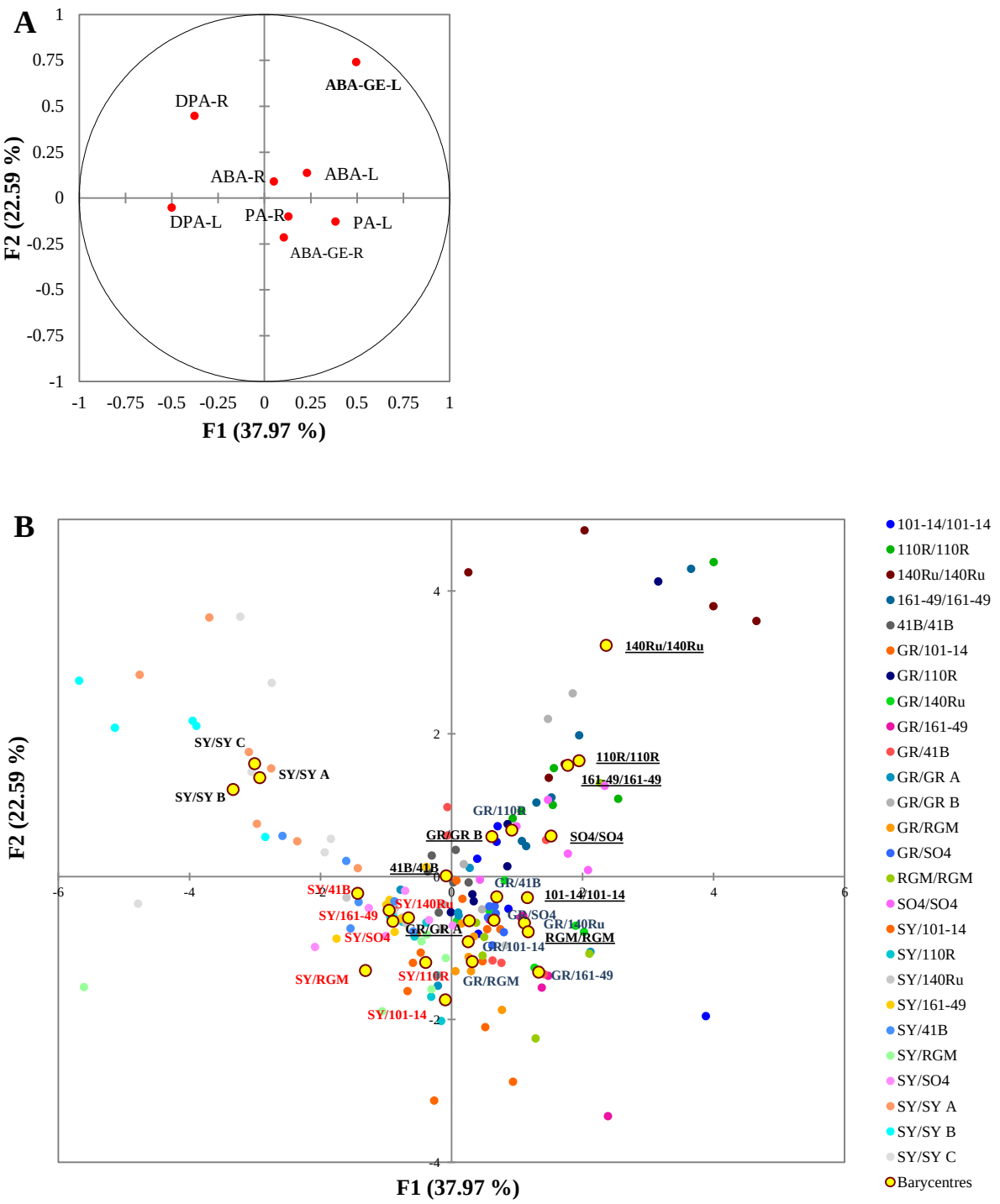


Figure 4.21- Discriminant function analysis on « scion/rootstock combination » variable. The analysis was performed on ABA, ABA-GE, PA and DPA metabolites in leaves (-L) and root tips (-R) in well-watered and water deficit condition. A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The metabolites names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated, homograft are underlined. For SY/SY and GR/GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

III-2.3. Analyse globale des métabolites

L'ensemble des données métaboliques foliaires et racinaires en situation non contrainte et de déficit hydrique ont été soumises à une analyse discriminante sur la variable "Combinaison greffon/porte-greffe" (Figure 4.21). Au total 60,56 % de la variabilité est expliquée par les axes F1 et F2 (Figure 4.21A), principalement définis par les teneurs en PA et DPA dans les feuilles, et ABA-GE dans les feuilles et DPA racinaire respectivement.

Cette analyse ne sera pas décrite en détail car les résultats sont pour la plupart redondants avec les analyses en situation non contrainte et de déficit hydrique. Cette analyse fait principalement ressortir que les homogreffes se distribuent sur l'ensemble du plan factoriel contrairement aux hétérogreffes dont le positionnement dépend beaucoup du greffon (Figure 4.21B). En effet, l'ensemble des hétérogreffes avec le greffon SY se regroupent dans la partie négative des axes F1 et F2, alors que la plupart des hétérogreffes avec le greffon GR se regroupent dans la partie positive de l'axe F1 et négative de l'axe F2. Il est intéressant de noter, que la combinaison GR/110R est la seule hétérogreffe dans la partie positive de l'axe F2. Il semblerait que cette combinaison soit moins affectée par le greffon GR que les autres combinaisons.

La corrélation générale entre les teneurs en métabolites foliaire et racinaire au cours des 3 séries expérimentales est présentée sous forme de classification hiérarchique ascendante (Figure 4.22) est la matrice de corrélation avec les variables physiologiques dans le Tableau S4.VIII. L'ensemble des métabolites racinaires analysés ainsi que l'ABA foliaire forment un groupe de variables fortement corrélées entre elles alors que les corrélations entre la teneur en ABA-GE, PA et DPA foliaire sont beaucoup plus faibles.

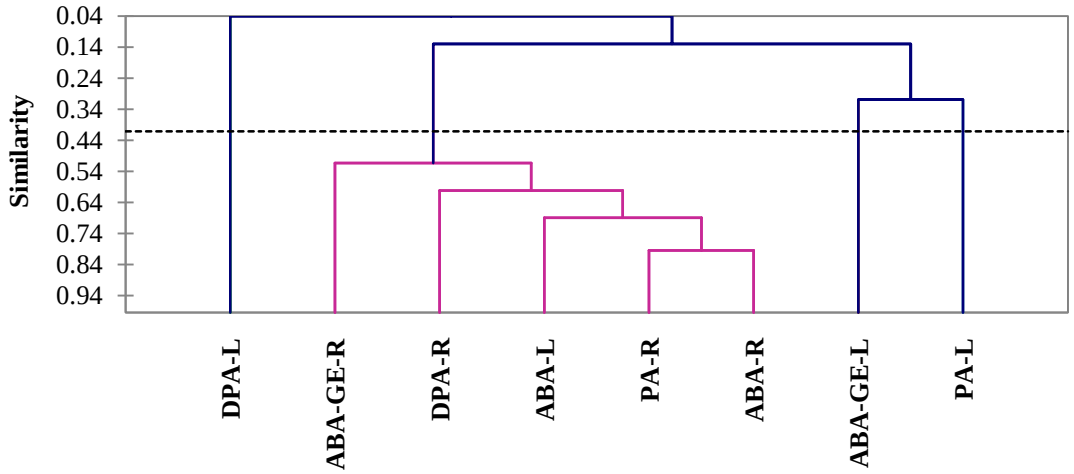


Figure 4.22- Tree of similarities between variables established from Pearson correlation coefficients between ABA-related metabolites in leaves (-L) and in root tips (-R).

IV- Discussion

Le travail présenté dans ce chapitre a permis de définir le comportement transpiratoire et l'évolution du potentiel hydrique de base et de tige pour l'ensemble des 23 combinaisons greffon/porte-greffe testées sous quatre niveaux de déficit hydrique. En parallèle, la conductance hydraulique à l'échelle de la plante, et les capacités transpiratoires et photosynthétiques à l'échelle de la feuille ont été évaluées en situation non contrainte et de contrainte hydrique prolongée. Finalement une analyse de la teneur en ABA et ses principaux métabolites a été réalisée sur des feuilles et de racines prélevées en situation non contrainte (J7) et suite à la mise en place du déficit hydrique (J11) dans le but de mettre en évidence les différences entre les combinaisons au niveau foliaire et racinaire.

IV-1. Réponse générale des combinaisons au traitement hydrique

L'ensemble des combinaisons présente une réponse générale typique à l'application d'une contrainte hydrique. La transpiration est maximale en situation non contrainte et largement affectée par les conditions environnementales. Après la mise en place du déficit hydrique (J11), le potentiel hydrique de base n'est globalement pas significativement réduit ce qui explique les valeurs de transpiration encore importantes. Cependant au moment du prélèvement (J11), la teneur en eau du sol a atteint en moyenne 21% (± 5%) de la teneur maximale, et la diminution significative du potentiel hydrique de tige indique un fort niveau de stress des plantes récoltées.

Les teneurs en ABA au niveau foliaire et racinaire ainsi que les teneurs en ABA-GE, PA et DPA racinaires augmentent significativement lors de la mise en place du déficit hydrique et sont fortement corrélées au potentiel hydrique de tige. Durant le déficit hydrique prolongé, la transpiration, le flux transpiratoire, l'assimilation carbonée et la conductance hydraulique des plantes sont significativement réduites indiquant un important contrôle stomatique des plantes mis en évidence, notamment par les relations entre la conductance stomatique et l'assimilation carbonée avec le potentiel hydrique de base. Ce dernier diminue en effet pendant les 3 jours de maintien du déficit, mais de manière non significative pour la plupart des combinaisons. Après 3 jours de déficit prolongé, le potentiel de tige est remonté plus ou moins au niveau initial (en l'absence de contrainte), sans pour autant que cela s'accompagne d'une augmentation de la transpiration des plantes qui reste significativement réduite par rapport à la situation non contrainte.

La réhydratation du sol entraine en 24h une augmentation supplémentaire du potentiel hydrique de base et de tige sans pour autant que la transpiration des plantes revienne au niveau sans contrainte, ce qui confirme les observations de Lovisolo et al. (2006 et 2008b) et Pou et al. (2012). Ces auteurs suggèrent que la fermeture prolongée des stomates permet la réparation des embolies dans les vaisseaux et la récupération en matière de conductance hydraulique à l'échelle de la plante entière, ce qui se traduit par une augmentation rapide du potentiel hydrique de base et de tige. Le maintien d'une teneur élevée en ABA dans les feuilles issu du pool racinaire pourrait expliquer la non-réouverture immédiate des stomates en situation de réhydratation. Lovisolo et al. (2010) rapportent que les plantes récupèrent 35 à 40 % de la conductivité hydraulique initiale après 24h, et Pou et al. (2012) observent une récupération totale de la conductance stomatique et de la transpiration seulement 8 jours après la réhydratation. Nous montrons également que cette capacité de récupération varie en fonction des combinaisons greffon/porte-greffe.

Le rapport A/g_s témoignant de l'efficience intrinsèque de l'eauest significativement affecté par le traitement hydrique. Il augmente en situation de déficit hydrique ou de réhydratation en fonction des expérimentations, comme précédemment rapporté par Chaves et al. (2010).

IV-2. Réponse de la transpiration à la contrainte hydrique pour les combinaisons SY/SY et GR/GR

Entre les différentes combinaisons, le pourcentage de réduction de la transpiration et du potentiel hydrique de tige entre la situation non contrainte et après le déficit hydrique prolongé est variable. Cette variabilité témoigne de différentes stratégies de régulation transpiratoire entre les combinaisons. Lorsque la teneur en eau du sol diminue, deux modes de régulation du potentiel hydrique foliaire et de la conductance stomatique ont été mis en évidence chez la plante. Certaines plantes comme le maïs voient leur potentiel foliaire maintenu, ce qui s'accompagne en général d'une baisse de la conductance stomatique et de la transpiration. Elles sont dites isohydriques. D'autres comme le tournesol voient leur potentiel diminuer et leur conductance stomatique partiellement maintenue. Elles sont dites anisohydriques (Tardieu et Simonneau, 1998). Une variabilité pour ce caractère a été mis en évidence entre génotypes de vigne (Schultz, 2003 ; Chaves et al., 2010 ; Prieto et al., 2010, Coupel-Ledru et al., 2014). Dans notre travail, nous avons estimé le caractère iso/anisohydrique des génotypes homo ou hétérogreffés à partir de la baisse de transpiration et de conductance stomatique mesurées à l'échelle de la feuille entre la situation non contrainte et celle en déficit hydrique prolongé.

La diminution de la transpiration et de la conductance stomatique est plus importante pour la combinaison GR/GR que pour SY/SY au cours de l'expérimentation 1. C'est moins net au cours de l'expérimentation 2 à l'échelle de la feuille, mais observée à l'échelle de la plante entière. De plus le potentiel hydrique de tige après l'application du déficit hydrique est plus négatif pour la combinaison SY/SY que pour GR/GR (de manière significative pour l'expérimentation n°1). La régulation stomatique plus importante chez la combinaison GR/GR peut être associée au comportement isohydrique de ce génotype. A l'inverse, la réduction de la transpiration est moins importante pour la combinaison SY/SY, ce qui est en adéquation avec un comportement anisohydrique, Le caractère iso/anisohydrique de ces deux génotypes a été précédemment décrit en situation non greffée (Soar et al., 2006) et en situation d'hétérogreffe (Schulz et al., 2003; Prieto et al., 2010 ; Coupel-Ledru et al., 2014). Notre étude révèle également un comportement différent de la conductance hydraulique pour ces deux combinaisons. Pour l'expérimentation n°2 et n°3, la combinaison SY/SY est caractérisée par un maintien plus important de sa conductance hydraulique en situation de déficit hydrique que la combinaison GR/GR. Comme suggéré par Alsina et al. (2007) et Vandeleur et al. (2009), le maintien plus important de la conductance hydraulique des variétés anisohydriques serait dû à une sensibilité plus faible à l'embolie permettant ainsi un maintien de la transpiration en période de déficit hydrique.

L'ensemble de ces éléments concourent à valider le caractère iso et anysodrique des génotypes GR et SY en situation d'homogreffe.

IV-3. La réponse transpiratoire des autres combinaisons

Le caractère iso- ou anisohydrique des autres génotypes étudiés n'est pas disponible au sein de la littérature à l'exception du génotype 110R en condition non greffée (Galmès et al., 2007). Pour ce génotype un comportement isohydrique a été défini en situation de déficit hydrique (Galmès et al., 2007). Notre étude montre qu'en situation de déficit hydrique prolongé la conductance stomatique de la combinaison est réduite de 94%, un niveau similaire à la combinaison GR/GR. De plus le potentiel hydrique de tige après le déficit hydrique est similaire à la combinaison GR/GR et significativement plus élevé que celui de la combinaison SY/SY. Les données de conductance hydraulique ne sont pas disponibles dans notre expérimentation, mais il semblerait que le comportement de l'homogreffe 110R/110R soit conforme au comportement défini en situation non greffée (Galmès et al., 2007). Le comportement des autres homogreffes peut également être défini de la même manière avec les génotypes 101-14, RGM, SO4 et 140Ru qui réduisent fortement leur transpiration, et les génotypes 41B et 161-49 qui la réduisent moins fortement.

Que se passe-t-il alors en situation greffée ? Les travaux de Tramontini et al. (2013) suggèrent que le greffon est principalement responsable du caractère iso- ou anisohydrique et que le porte-greffe, via la régulation des flux hydriques, peut permettre de modifier ce caractère. Coupel-Ledru et al. (2014) mettent également en évidence un contrôle génétique fort du greffon pour ce caractère au sein d'une population issue d'un croisement SY x GR. Nos travaux montrent en effet que, pour les hétérogreffes ayant les génotypes 161-49 et 140Ru, la réponse des greffons de type iso- ou anisohydrique des greffons semble maintenue. Le pourcentage de réduction stomatique entre la situation non contrainte et celle en déficit hydrique prolongé est plus important pour le greffon GR que pour le greffon SY pour un même potentiel hydrique de tige (données non présentées). De plus la part de conductance hydraulique maintenue en situation de déficit hydrique est plus importante pour les combinaisons avec le greffon SY. Par contre pour les hétérogreffes avec les porte-greffes RGM, 41B et SO4, 110R et 101-14, il apparait que la réponse du greffon est modifiée. Avec RGM, 41B, SO4 et 110R, une fermeture stomatique plus importante pour le greffon SY (à potentiel hydrique équivalent) est observée. De plus pour ces combinaisons (hormis celles avec 110R où elle n'a pas été déterminée), la réduction de la conductance hydraulique devient aussi importante que pour les combinaisons avec le greffon GR. Pour le porte-greffe 101-14, une fermeture stomatique moins importante est enregistrée avec le greffon GR, alors qu'elle n'est pas modifiée pour le greffon SY. Ces résultats confirment ceux précédemment observés (Tramontini et al., 2013), mais montrent aussi que le contrôle stomatique peut être modifié par le porte-greffe (revue par Chaves et al., 2010, Lovisolo et al., 2010, Alsina et al., 2011). De plus la perte de conductivité hydraulique en situation de déficit apparait être en lien majeur avec le contrôle stomatique, comme le suggèrent Coupel-Ledru et al. (2014).

Plusieurs auteurs rapportent que le caractère iso/anisohydrique est variable pour un génotype donné en fonction du porte-greffe, du climat (VPD et température) et de l'intensité et de la durée du déficit hydrique (Franks et al., 2007 ; Chaves et al., 2010 ; Lovisolo et al., 2010). Rogiers et al. (2012) et Zhang et al. (2012) mettent en évidence des différences liées aux variations conjointes de l'état hydrique du sol et du déficit de pression de vapeur qui pourraient modifier la sensibilité des stomates au VPD. Un signal de type hormonal ou hydraulique variable en fonction de l'état hydrique du sol pourrait expliquer ce changement de comportement (Domec et al., 2012). A l'échelle de la feuille, une étroite intégration entre ces 2 types de signaux a été mise en évidence et pourrait expliquer le caractère iso ou anisohydrique (Pantin et al., 2013). Les variations de ces signaux en fonction du génotype de porte-greffes pourraient expliquer les modifications de la régulation de la transpiration et de la conductance stomatique en fonction des interactions greffon / porte-greffe.

IV-4. Régulation des métabolites liées à l'ABA

Les teneurs en ABA, ABA-GE, PA et DPA ont été évaluées sur l'ensemble des génotypes au niveau foliaires et racinaires, en situation de non contrainte et en situation de déficit hydrique (J11).

L'analyse de corrélations menée sur l'ensemble des données métaboliques montre que dans les racines, il y a une très forte corrélation entre tous les métabolites, ainsi qu'avec la teneur en eau du sol et avec les potentiels hydriques de base et de tige (Tableau S4.VIII). Au niveau foliaire, seule la teneur en ABA foliaire est significativement corrélée (R > 0.3) à la teneur racinaire en ABA, au potentiel hydrique du sol ou de tige ainsi qu'à la teneur en eau du sol.

L'absence de corrélation générale au niveau foliaire peut être expliquée par les différences observées entre les greffons SY et GR pour leur teneur en PA et DPA en situation ou non de contrainte hydrique. Une analyse de corrélation a été réalisée séparément pour chaque greffon (données non présentées) et met en évidence des corrélations significatives (R> 0.3) entre les teneurs en ABA-GE, PA et DPA avec le potentiel hydrique de base pour le greffon GR. A l'inverse les concentrations en métabolites ne sont pas corrélées aux paramètres physiologiques pour le greffon SY.

En effet des fortes différences génotypiques ont été identifiées au niveau racinaire et foliaire sur les produits de dégradation de l'ABA, mais aussi pour sa forme de stockage ABA-GE. Notre étude a montré que les génotypes SY et GR se différencient principalement par leur produit de dégradation de l'ABA. Le génotype SY au niveau foliaire et racinaire accumule principalement du DPA alors que le génotype GR accumule préférentiellement du PA en situation de déficit hydrique ou non. C'est la principale distinction entre les génotypes au niveau racinaire. Ces résultats déjà rapportés au chapitre 2 pour ces deux génotypes pour les concentrations dans la sève xylémienne, traduisent une régulation différentielle du catabolisme de l'ABA. PA pourrait intervenir dans la fermeture précoce des stomates du génotype GR (Loveys et Kriedmann, 1974), mais son rôle sur le contrôle stomatique n'a pas été confirmé depuis.

Au niveau foliaire, l'accumulation d'ABA-GE permet de discriminer les génotypes en situation ou non de contrainte hydrique. En situation non contrainte, l'ABA-GE foliaire est le principal discriminant des génotypes ayant un fond génétique *V. vinifera* (SY, GR et 41B) de l'ensemble des autres génotypes testés. En situation de déficit hydrique, la discrimination est la même (à l'exception du RGM qui n'est pas discriminé). La présence d'ABA-GE peut permettre de libérer rapidement de l'ABA (Lee et al., 2006) en situation de déficit hydrique afin de réguler l'ouverture stomatique. Certains auteurs ont suggéré que l'ABA-GE jouait un rôle mineur sur cette régulation car la concentration observée était très faible (Neill *et al.*, 1983; Priest *et al.*, 2006). Cependant dans notre étude les concentrations en ABA-GE en situation de déficit hydrique sont similaires voire supérieures à celles en ABA pour les génotypes cités ce et pourrait donc intervenir sur le contrôle stomatique propre de ces génotypes.

Cette étude montre que la teneur en ABA dans les racines et les feuilles est principalement expliquée par le statut hydrique des plantes, et qu'elle discrimine très peu les génotypes entre eux, que ce soit au niveau foliaire ou racinaire en situation d'homogreffe ou d'hétérogreffe. Par contre on révèle des différences marquées entre génotypes au niveau foliaire et au niveau racinaire pour la forme de stockage et les catabolites de l'ABA. Ces effets sont soumis à l'interaction greffon-porte-greffe et les teneurs en métabolites racinaires ne sont globalement pas corrélées aux teneurs foliaires. Il semblerait alors que le métabolisme (stockage/dégradation) de l'ABA au niveau foliaire et racinaire soit indépendant, et pas forcément relié à l'état hydrique.

En ce qui concerne les greffons GR et SY, on constate des différences principalement au niveau de la teneur en PA/DPA et de leur variation de concentration en fonction du déficit hydrique. Par contre on met en évidence des différences du caractère iso/anisohydrique et des effets du porte-greffe sur l'expression de ce caractère, alors que les teneurs en ABA racinaire et foliaire ne permettent pas de discriminer les porte-greffes pour les différentes combinaisons étudiées. Il a été proposé que le caractère iso ou anisohydrique pourrait s'expliquer par un effet variable de l'ABA au niveau foliaire (Davies et al., 1994 ; Rogiers et al., 2012), mais nos résultats suggèrent qu'un autre type de signal en provenance des racines pourrait participer à ce contrôle et donc expliquer les variations du caractère iso/anisohydrique par le porte-greffe. Un signal hydraulique est fortement probable (Vandeleur et al. 2009 ; Pou et al., 2013, Domec et al. ; 2012). Dans notre travail, le lien entre la réduction de conductance hydraulique et le caractère iso/anisohydrique corrobore cette hypothèse.

V- Conclusions

L'analyse effectuée au sein de ce chapitre a permis de valider et d'établir le comportement iso- et anisohydrique pour l'ensemble des combinaisons étudiées. Le comportement observé en situation d'homogreffe pour les génotypes 110R, SY et GR est conforme à celui rapporté en situation non greffée montrant que le caractère iso ou anisohydrique est d'abord déterminé par le génotype et que le greffage en lui-même ne conduit pas à une modification du contrôle stomatique.

Cependant le génotype de porte-greffe est capable d'influencer la régulation stomatique du greffon, qu'il soit naturellement iso ou anisohydrique. En situation homo ou hétéro-greffée, la perte de conductance hydraulique est un paramètre majeur du type de régulation stomatique du greffon. L'ABA influence les propriétés hydrauliques, que ce soit à l'échelle de la plante ou de différents organes (Schultz et Matthews, 1988; Lovisolo et Schubert 1998, 2006; Lovisolo et al., 2008a, 2008b; Schultz 2003; Pou et al., 2008). Cependant dans notre étude, l'ABA n'est pas le facteur principal de discrimination entre génotypes. Au niveau racinaire il apparait que le métabolisme de l'ABA est commun à tous les porte-greffes testés et qu'il est principalement contrôlé par la disponibilité en eau et le potentiel hydrique du tissu. Au niveau foliaire, les différences entre génotypes sont plus marquées, notamment entre les variétés *V. vinifera*. De plus seule la teneur en ABA au niveau foliaire est en lien avec le métabolisme racinaire, la disponibilité en eau et le potentiel hydrique du tissu.

VI- Données supplémentaires

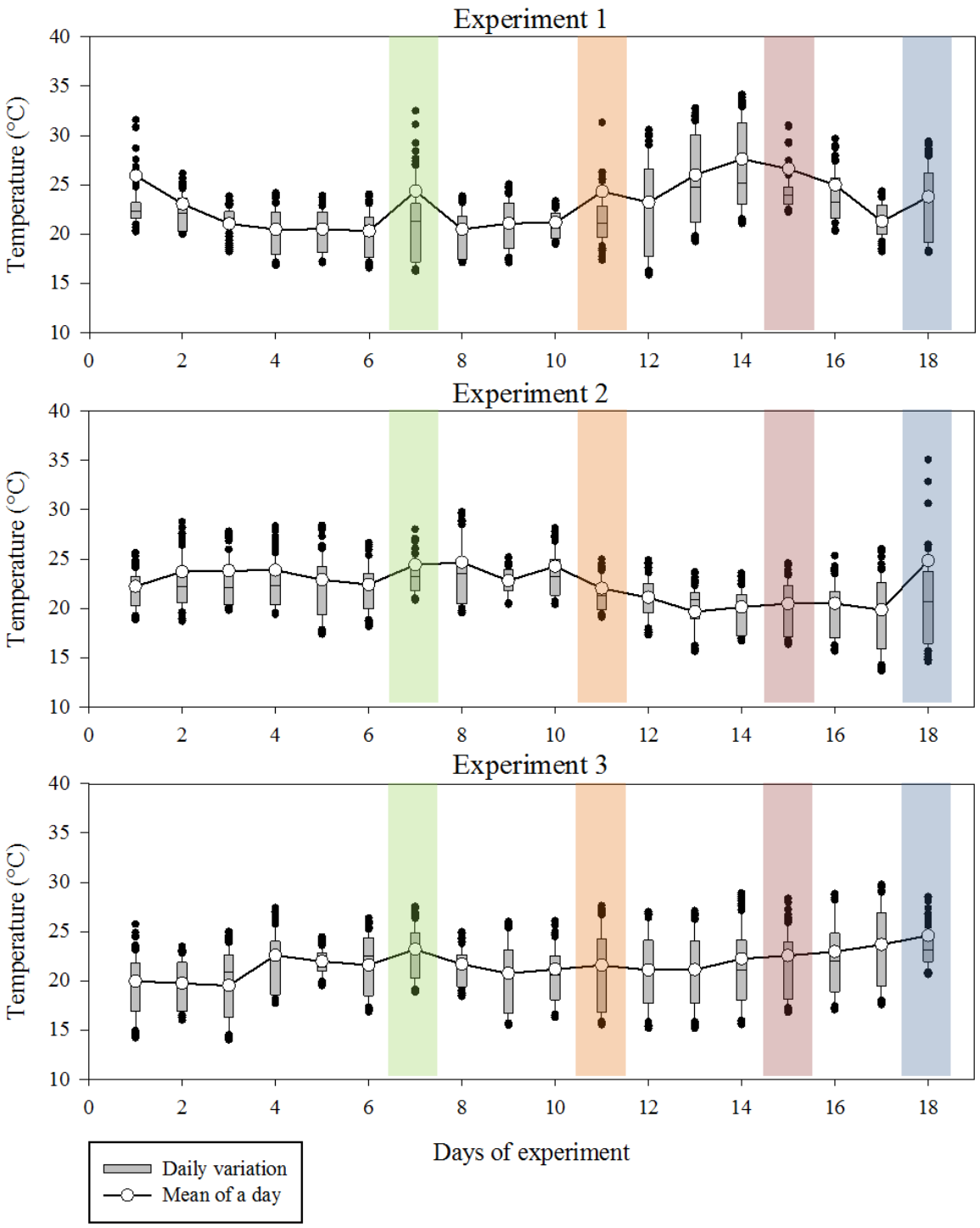


Figure S4.1- Summarized temperature during the three experiments. Mean temperatures per day and their distribution between 8:00 and 22:00 are shown. Shaded boxes represent the days of sampling, in well-watered (green), water deficit (orange), prolonged water deficit (red) and rehydratation (blue) conditions.

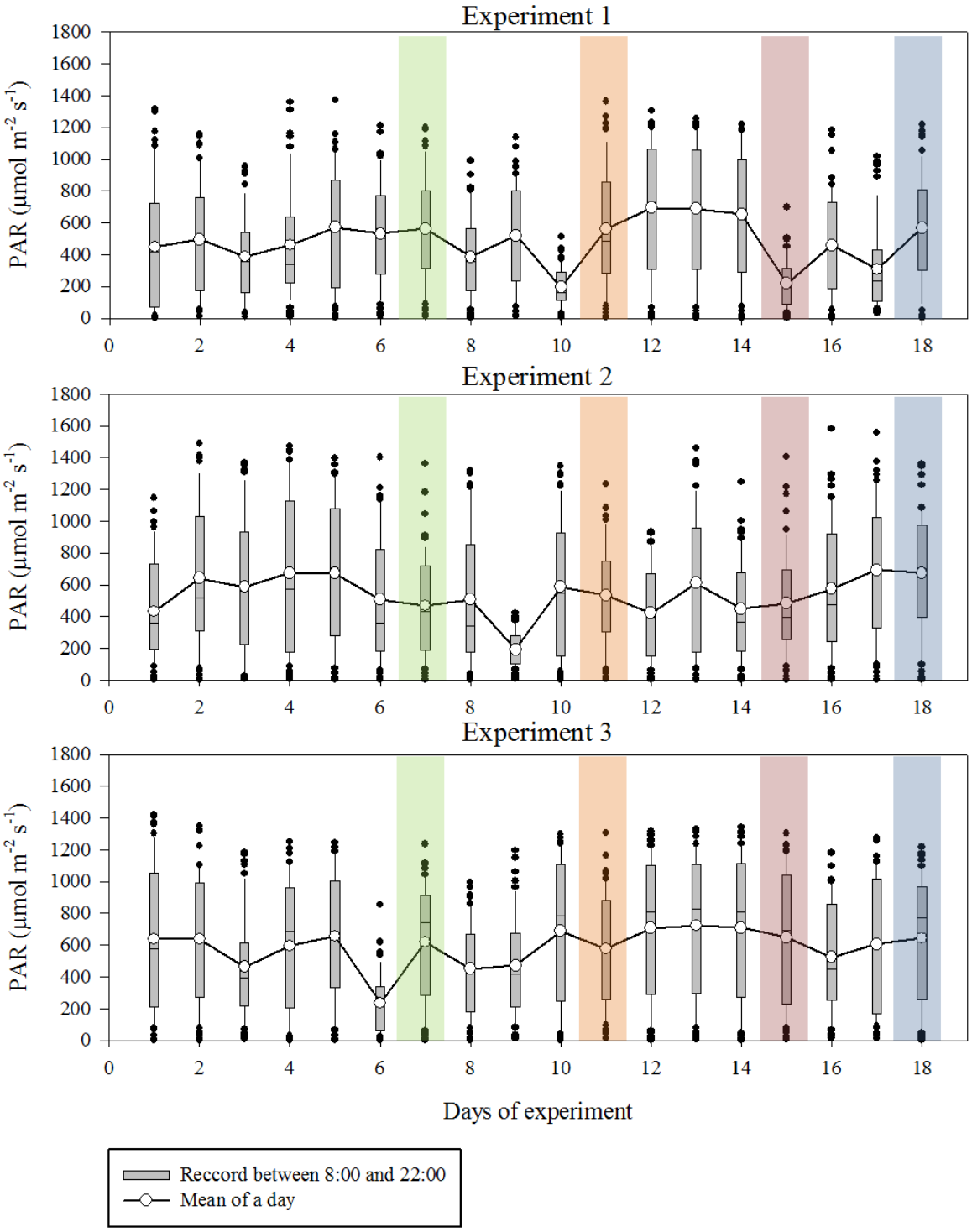


Figure S4.2- Summarized PAR during the three experiments. Mean PAR values per day and their distribution between 8:00 and 22:00 are shown. Shaded boxes represent the days of sampling, in well-watered (green), water deficit (orange), prolonged water deficit (red) and rehydratation (blue) conditions.

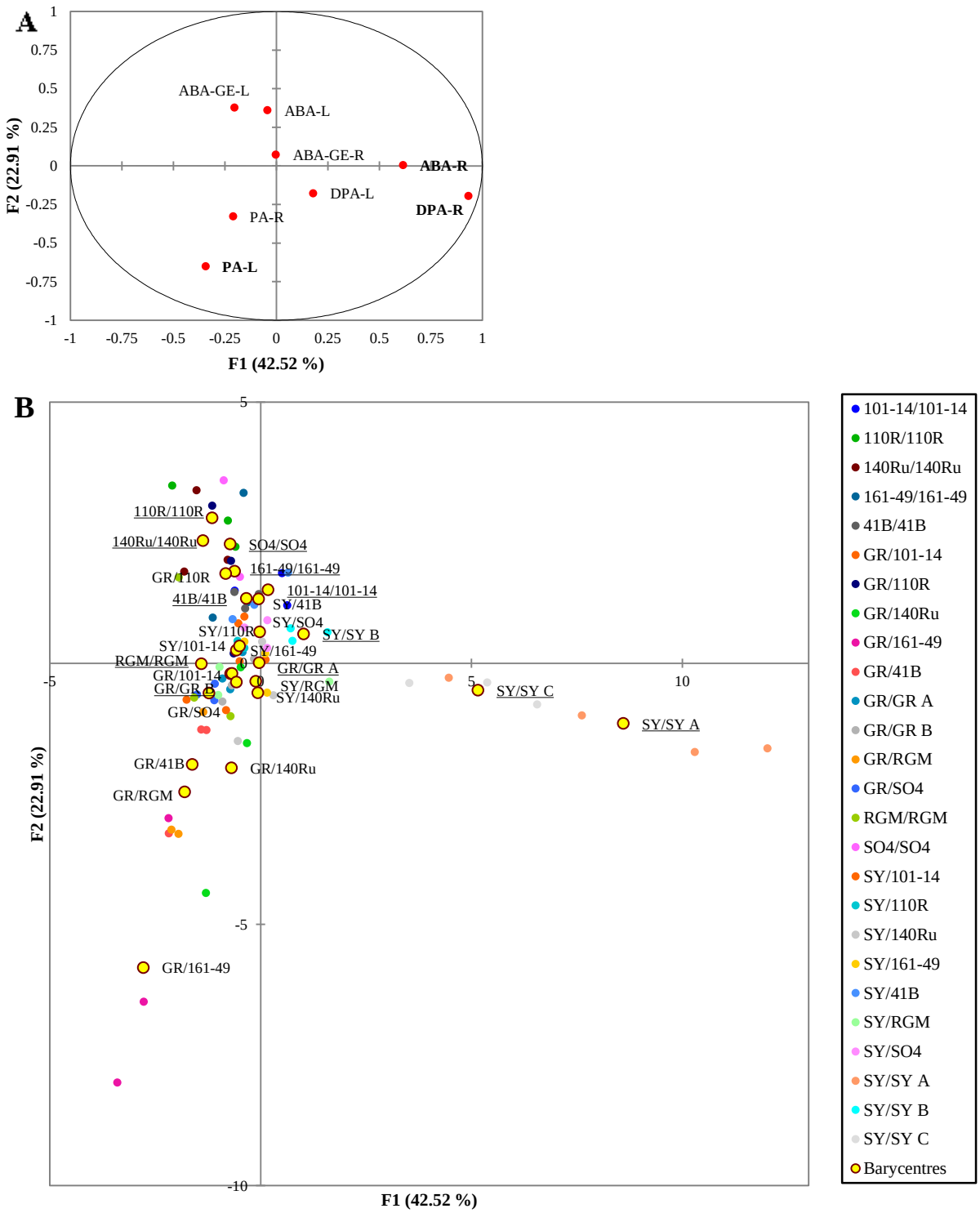


Figure S4.3– Discriminant function analysis on « scion/rootstock combination » variable. The analysis was performed on ABA, ABA-GE, PA and DPA metabolites in leaves (-L) and root tips (-R) in well-watered conditions. A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The metabolites names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY/SY and GR/GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

Tableau S4.I- Mean of plant hydraulic conductance for each combination used in well-watered condition and after 3 days of prolonged water deficit for experiment 2 and 3. p-value of a two way ANOVA on combinations and water treatment is presented in the first block. Combination, treatment and interaction effect are presented in the three following blocks (n=3-5).

	Experiment 2		
	Combination	0.222	
	Treatment	< 0.0001	
	Interaction	0.161	
Combination	RGM/RGM	1.30E-04	a
	SY/RGM	1.19E-04	a
	GR/RGM	1.19E-04	a
	41B/41B	1.01E-04	a
	SY/41B	7.72E-05	a
	GR/41B	9.18E-05	a
	SY/SY	1.22E-04	a
	GR/GR	1.27E-04	a
	Well -watered	1.75E-04	a
	3 days of water deficit	4.71E-05	b
Well-watered	RGM/RGM	2.50E-04	a
	SY/RGM	2.11E-04	ab
	GR/RGM	1.60E-04	abcd
	41B/41B	1.92E-04	ab
	SY/41B	1.31E-04	abcdef
	GR/41B	1.37E-04	abcde
	SY/SY	1.58E-04	abcde
	GR/GR	1.88E-04	abc
3 days of water deficit	RGM/RGM	5.79E-05	def
	SY/RGM	5.00E-05	def
	GR/RGM	6.47E-05	cdef
	41B/41B	2.82E-05	f
	SY/41B	3.69E-05	ef
	GR/41B	4.70E-05	ef
	SY/SY	6.88E-05	bcdef
	GR/GR	3.48E-05	ef

	Experiment 3		
	Combination	0.459	
	Treatment	< 0.0001	
	Interaction	0.584	
Combination	SO4/SO4	1.07E-04	a
	SY/SO4	1.37E-04	a
	GR/SO4	9.08E-05	a
	161-49/161-49	1.53E-04	a
	SY/161-49	1.20E-04	a
	GR/161-49	9.26E-05	a
	140Ru/140Ru	1.76E-04	a
	SY/140Ru	1.60E-04	a
	GR/140Ru	2.11E-04	a
	SY/SY	1.12E-04	a
	Well -watered	1.88E-04	a
	3 days of water deficit	6.81E-05	b
Well-watered	SO4/SO4	1.71E-04	ab
	SY/SO4	2.03E-04	ab
	GR/SO4	1.33E-04	ab
	161-49/161-49	1.72E-04	ab
	SY/161-49	1.56E-04	ab
	GR/161-49	1.23E-04	ab
	140Ru/140Ru	2.53E-04	ab
	SY/140Ru	2.02E-04	ab
	GR/140Ru	3.11E-04	a
	SY/SY	1.62E-04	ab
3 days of water deficit	SO4/SO4	4.29E-05	b
	SY/SO4	5.43E-05	b
	GR/SO4	6.53E-05	b
	161-49/161-49	1.28E-04	ab
	SY/161-49	7.18E-05	ab
	GR/161-49	5.42E-05	b
	140Ru/140Ru	2.21E-05	b
	SY/140Ru	1.03E-04	ab
	GR/140Ru	7.83E-05	ab
	SY/SY	7.14E-05	b

Tableau S4.II- Mean of transpiration (E), stomatal conductance (gs), carbon assimilation rate (A) and intrinsic water use efficiency (WUE) for the different combinations in experiment n°1. p-value of a two way ANOVA on combinations and water treatment is presented in the first block. Combination, treatment and interaction effect are presented in the three following blocks (n=3-5).

		E		gs		A		WUE	
Combination		0.081		0.032		0.009		0.0004	
Treatment		< 0.0001		< 0.0001		< 0.0001		< 0.0001	
Interaction		0.192		0.100		0.397		0.009	
		E		gs		A		WUE	
Well-watered	101-14/101-14	0.963	ab	35.339	ab	6.907	b	0.155	bc
	SY/101-14	0.862	b	33.497	b	7.163	ab	0.233	a
	GR/101-14	1.105	ab	43.377	ab	9.705	a	0.240	a
	110R/110R	1.046	ab	42.066	ab	7.577	ab	0.173	abc
	SY/110R	0.984	ab	39.293	ab	6.458	b	0.164	abc
	GR/110R	1.156	a	46.178	a	8.992	ab	0.215	ab
	SY/SY	0.965	ab	36.488	ab	6.603	b	0.190	abc
	GR/GR	0.949	ab	38.116	ab	6.769	b	0.130	c
		E		gs		A		WUE	
Treatment	Well-watered	1.885	a	73.603	a	11.706	a	0.162	b
	3 days of water deficit	0.190	c	6.763	c	1.568	c	0.160	b
	1 day after rehydratation	0.968	b	38.926	b	9.995	b	0.259	a
		E		gs		A		WUE	
Well-watered	101-14/101-14	1.863	a	72.855	abc	12.218	a	0.167	abcde
	SY/101-14	1.593	abc	61.488	abcde	10.242	a	0.180	abcd
	GR/101-14	1.913	a	74.582	ab		a	0.180	abcd
	110R/110R	2.001	a	80.253	a	12.872	a	0.159	bcde
	SY/110R	1.769	ab	68.729	abcd	10.079	a	0.151	bcde
	GR/110R	2.034	a	79.633	a	12.853	a	0.162	abcde
	SY/SY	1.823	ab	68.359	abcde	9.737	a	0.141	bcde
	GR/GR		a		a	12.462	a	0.143	bcde
3 days of water deficit	101-14/101-14	0.093	g	3.222	h	0.300	d	0.077	de
	SY/101-14	0.254	fg	8.948	gh	1.986	cd	0.203	abcd
	GR/101-14	0.310	efg	10.663	gh	3.044	bcd	0.247	abc
	110R/110R	0.115	g	4.066	h	0.520	d	0.125	cde
	SY/110R	0.108	g	3.850	h	0.613	d	0.255	abc
	GR/110R	0.303	efg	11.170	gh	3.384	bcd	0.153	bcde
	SY/SY	0.291	efg	10.501	gh	2.569	bcd	0.172	abcde
	GR/GR		g		h		d	0.018	e
1 day after rehydratation	101-14/101-14	0.926	de	28.588	fgh	8.526	ab	0.236	abc
	SY/101-14	0.739	def	30.056	fg	9.260	a	0.315	a
	GR/101-14	1.090	cd	44.887	def	12.980	a	0.292	ab
	110R/110R	1.023	cd	41.879	ef	9.337	a	0.235	abc
	SY/110R	1.136	bcd	49.303	bcdef	10.166	a	0.205	abcd
	GR/110R	1.129	cd	47.731	cdef	10.739	a	0.229	abcd
	SY/SY	0.718	defg	28.643	fgh	7.804	abc	0.278	abc
	GR/GR	0.923	def	37.871	efg	10.082	a	0.266	abc

Tableau S4.III- Percentage of changes in transpiration (E), stomatal conductance (gs), carbon assimilation rate (A) and intrinsic water use efficiency (A/gs) for the different combinations in experiment n°1 between well-watered conditions and after 3 days of stopping irrigation or 1 day after rehydratation.

		% of well watered condition			
		E	gs	A	A/gs
3 days of water deficit	101-14/101-14	95	96	98	54
	SY/101-14	84	85	81	-12
	GR/101-14	84	86	77	-37
	110R/110R	94	95	96	21
	SY/110R	94	94	94	-70
	GR/110R	85	86	74	6
	SY/SY	84	85	74	-22
	GR/GR	98	98	100	88
1 day after rehydratation	101-14/101-14	50	61	30	-42
	SY/101-14	54	51	10	-75
	GR/101-14	43	40	1	-62
	110R/110R	49	48	27	-48
	SY/110R	36	28	-1	-36
	GR/110R	44	40	16	-42
	SY/SY	61	58	20	-97
	GR/GR	58	57	19	-86

Tableau S4.IV- Mean and ANOVA result on scion, rootstock and interaction on ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R). p-value is presented in the first block and combination, treatment and interaction effect are presented in the three following blocks (n=3) for each experiment.

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
p-value	Scion	< 0,0001	0.020	0.018	< 0,0001	0.105	0.279	0.099	0.949
	Rootstock	0.799	0.363	0.803	0.655	0.0001	0.011	0.010	< 0,0001
	Scion*Rootstock	0.930	0.308	0.369	0.395	0.195	0.476	0.931	0.976
Scion	101-14	237 b	736 ab	279 ab	23 b	16 a	28 a	3.3 a	113 b
	110R	337 a	1542 a	212 b	22 b	20 a	28 a	5.0 a	46 b
	SY	190 b	274 b	198 b	261 a	21 a	27 a	4.4 a	312 a
	GR	90 c	728 ab	337 a	65 b	16 a	29 a	5.1 a	70 b
Rootstock	101-14	163 ab	510 a	281 ab	107 b	18 b	46 a	7.6 a	95 b
	110R	208 a	985 a	240 ab	115 b	14 b	20 a	2.9 a	40 b
	SY	199 a	360 a	186 b	286 a	35 a	20 a	2.9 a	707 a
	GR	99 b	413 a	348 a	62 b	11 b	8 a	2.8 a	59 b
		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
Scion/ Rootstock	101-14/101-14	237 ab	736 a	279 ab	23 b	16 b	28 a	3.3 a	113 b
	SY/101-14	175 bcd	208 a	203 ab	225 a	18 ab	56 a	9.5 a	72 b
	GR/101-14	78 d	585 a	362 a	73 b	20 ab	55 a	10.1 a	101 b
	110R/110R	337 a	1542 a	212 ab	22 b	20 ab	28 a	5.0 a	46 b
	SY/110R	194 bcd	226 a	208 ab	264 a	5 b	8 a	1.4 a	25 b
	GR/110R	92 cd	1186 a	301 ab	59 b	16 b	25 a	2.4 a	50 b
	SY/SY	199 bc	360 a	186 b	286 a	35 a	20 a	2.9 a	707 a
	GR/GR	99 cd	413 a	348 ab	62 b	11 b	8 a	2.8 a	59 b

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
p-value	Scion	0.002	0.444	0.0001	0.611	0.465	0.170	0.262	0.703
	Rootstock	0.999	0.327	0.008	0.786	0.972	0.161	0.001	0.267
	Scion*Rootstock	0.799	0.674	0.026	0.416	0.849	0.942	0.272	0.880
Scion	RGM	485 a	667 a	457 ab	77 a	16.5 a	10.8 a	8.8 a	60.8 a
	41B	168 b	404 a	205 b	62 a	15.1 a	18.0 a	1.4 b	55.2 a
	SY	154 b	398 a	184 b	845 a	10.2 a	17.5 a	2.0 b	49.2 a
	GR	69 b	428 a	1060 a	176 a	11.8 a	17.1 a	4.2 b	52.0 a
Rootstock	RGM	236 a	406 a	491 a	392 a	12.6 a	17.8 a	7.6 a	47.7 a
	41B	134 a	409 a	729 a	258 a	12.9 a	18.0 a	1.0 b	43.0 a
	SY	148 a	751 a	295 a	1186 a	9.3 a	12.7 a	0.3 b	81.0 a
	GR	67 a	355 a	442 a	67 a	11.5 a	12.6 a	2.7 b	66.8 a
		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
Scion/ rootstock	RGM/RGM	485 a	667 a	457 b	77 a	16.5 a	10.8 a	8.8 a	60.8 a
	SY/RGM	164 b	205 a	159 b	965 a	10.4 a	21.4 a	5.1 ab	33.8 a
	GR/RGM	60 b	345 a	856 ab	134 a	11.0 a	21.1 a	8.8 a	48.3 a
	41B/41B	168 ab	404 a	205 b	62 a	15.1 a	18.0 a	1.4 b	55.2 a
	SY/41B	151 b	239 a	97 b	384 a	10.9 a	18.3 a	0.4 b	32.7 a
	GR/41B	81 b	584 a	1883 a	328 a	12.8 a	17.5 a	1.1 b	40.9 a
	SY/SY	148 b	751 a	295 b	1186 a	9.3 a	12.7 a	0.3 b	81.0 a
	GR/GR	67 b	355 a	442 b	67 a	11.5 a	12.6 a	2.7 ab	66.8 a

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
p-value	Scion	0.007	< 0,0001	0.011	0.226	0.406	0.049	0.159	0.659
	Rootstock	0.928	0.973	0.141	0.320	0.034	0.075	0.626	< 0,0001
	Scion*Rootstock	0.763	0.910	0.023	0.373	0.080	0.096	0.949	0.882
Scion	SO4	578 a	968 bc	580 ab	119 a	8.8 a	19.1 a	2.1 a	40 a
	161-49	235 ab	1543 ab	713 ab	96 a	12.9 a	31.5 a	2.6 a	81 a
	140Ru	496 ab	2059 a	1034 ab	148 a	10.5 a	15.9 a	2.0 a	45 a
	SY	210 b	471 c	444 b	718 a	12.4 a	23.4 a	3.2 a	149 a
	GR	146 b	691 c	1818 a	353 a	12.9 a	25.7 a	6.4 a	82 a
Rootstock	SO4	300 a	685 a	650 a	381 a	11.2 ab	26.5 a	3.3 a	44 b
	161-49	224 a	936 a	1406 a	447 a	10.6 b	23.5 a	5.0 a	73 b
	140Ru	273 a	1053 a	1021 a	255 a	11.9 ab	19.8 a	3.8 a	88 b
	SY	195 a	504 a	327 a	1043 a	19.5 a	27.8 a	2.3 a	397 a
		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
Scion/ Rootstock	SO4/SO4	578 a	968 ab	580 b	119 a	8.8 a	19.1 a	2.1 a	40 b
	SY/SO4	232 a	460 b	380 b	842 a	7.3 a	22.9 a	2.1 a	31 b
	GR/SO4	90 a	627 b	991 ab	183 a	17.4 a	37.5 a	5.6 a	60 b
	161-49/161-49	235 a	1543 ab	713 b	96 a	12.9 a	31.5 a	2.6 a	81 b
	SY/161-49	214 a	461 b	305 b	592 a	10.8 a	22.2 a	4.8 a	71 b
	GR/161-49	223 a	805 b	3200 a	653 a	8.0 a	16.8 a	7.7 a	66 b
	140Ru/140Ru	496 a	2059 a	1034 ab	148 a	10.5 a	15.9 a	2.0 a	45 b
	SY/140Ru	199 a	459 b	763 b	394 a	12.0 a	20.6 a	3.5 a	99 b
	GR/140Ru	125 a	641 b	1265 ab	222 a	13.4 a	22.8 a	5.8 a	120 b
	SY/SY	195 a	504 b	327 b	1043 a	19.5 a	27.8 a	2.3 a	397 a

Tableau S4.V- Mean of ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R) of combination studied in experiment n°1 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each metabolites. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
p-value	Combinaion	0.300	0.000	0.098	0.000	0.675	< 0.0001	0.002	< 0.0001
	Treatment	< 0.0001	0.614	0.000	0.020	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	0.404	0.106	0.628	0.494	0.545	0.001	0.011	0.038
Combinaison scion/rootstock	101-14/101-14	710 a	803 bc	350 a	38 a	289 a	109 c	32 ab	382 a
	SY/101-14	741 a	403 ab	370 a	363 ab	270 a	121 c	43 b	441 a
	GR/101-14	475 a	500 ab	447 a	89 a	177 a	98 bc	25 ab	345 a
	110R/110R	648 a	1290 c	264 a	38 a	180 a	48 ab	9 a	147 a
	SY/110R	689 a	113 a	338 a	331 ab	293 a	44 a	12 a	202 a
	GR/110R	357 a	869 bc	311 a	67 a	178 a	50 ab	9 a	185 a
	SY/SY	275 a	582 ab	240 a	459 b	156 a	26 a	9 a	1057 b
	GR/GR	455 a	404 ab	473 a	100 a	188 a	45 a	14 a	250 a
Treatment	Well-watered	177 a	645 a	259 a	133 a	18 a	28 a	5 a	169 a
	Water deficit	914 b	593 a	438 b	252 b	420 b	107 b	34 b	620 b

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
Well-watered	101-14/101-14	237 ab	736 abc	279 ab	23 a	16 a	28 a	3 a	113 ab
	SY/101-14	175 a	208 ab	203 ab	225 ab	18 a	56 a	10 a	72 ab
	GR/101-14	78 a	585 abc	362 ab	73 a	20 a	55 a	10 a	101 ab
	110R/110R	337 ab	1542 c	212 ab	22 a	20 a	28 a	5 a	46 a
	SY/110R	194 a	226 ab	208 ab	264 ab	5 a	8 a	1 a	25 a
	GR/110R	92 a	1186 bc	301 ab	59 a	16 a	25 a	2 a	50 a
	SY/SY	199 a	360 ab	186 a	286 ab	35 a	20 a	3 a	707 cd
	GR/GR	99 a	413 ab	348 ab	62 a	11 a	8 a	3 a	59 a
Water deficit	101-14/101-14	1183 ab	871 abc	422 ab	54 a	561 b	189 c	61 bc	652 cd
	SY/101-14	1307 b	598 abc	537 ab	501 ab	523 b	187 c	76 c	809 d
	GR/101-14	872 ab	414 ab	532 ab	105 a	334 ab	142 bc	39 abc	588 bcd
	110R/110R	959 ab	1037 abc	317 ab	54 a	339 ab	68 ab	13 a	249 abc
	SY/110R	1184 ab	0 a	467 ab	399 ab	581 b	80 ab	23 abc	379 abcd
	GR/110R	622 ab	551 abc	321 ab	76 a	339 ab	76 ab	16 a	320 abcd
	SY/SY	375 ab	878 abc	312 ab	689 b	317 ab	34 a	17 ab	1524 e
	GR/GR	812 ab	396 ab	598 b	137 ab	364 ab	82 ab	25 ab	440 abcd

Tableau S4.VI- Mean of ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R) of combination studied in experiment n°2 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each metabolites. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
p-value	Combinaison	0.4842	0.0793	0.0080	0.2371	0.4595	0.0521	0.0060	0.0008
	traitement	0.0008	0.5569	0.8079	0.4236	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	interaction	0.4626	0.0614	0.0350	0.6873	0.4580	0.1513	0.0945	0.0040
Combinaison scion/rootstock	RGM/RGM	684 a	544 a	535 ab	94 a	157 a	30 ab	25 b	204 a
	SY/RGM	360 a	250 a	258 ab	747 a	120 a	43 b	18 ab	155 a
	GR/RGM	120 a	340 a	677 ab	107 a	63 a	34 ab	15 ab	128 a
	41B/41B	293 a	413 a	242 ab	61 a	124 a	23 a	3 a	200 a
	SY/41B	610 a	251 a	242 ab	458 a	183 a	31 ab	5 ab	384 a
	GR/41B	802 a	612 a	1257 b	228 a	148 a	28 ab	4 a	307 a
	SY/SY	387 a	514 a	234 a	702 a	217 a	33 ab	11 ab	1011 b
	GR/GR	688 a	874 a	1111 ab	257 a	317 a	23 a	20 ab	640 ab
Treatment	Well-watered	166 a	444 a	549 a	400 a	12 a	17 a	4 a	52 a
	Water deficit	803 b	506 a	575 a	281 a	316 b	44 b	21 b	717 b

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
Well-watered	RGM/RGM	485 a	667 ab	457 ab	77 a	17 a	11 a	9 abc	61 a
	SY/RGM	164 a	205 a	159 a	965 a	10 a	21 abcd	5 a	34 a
	GR/RGM	60 a	345 ab	856 ab	134 a	11 a	21 abcd	9 abc	48 a
	41B/41B	168 a	404 ab	205 ab	62 a	15 a	18 abc	1 a	55 a
	SY/41B	151 a	239 a	97 a	384 a	11 a	18 abc	0 a	33 a
	GR/41B	81 a	584 ab	1883 b	328 a	13 a	17 ab	1 a	41 a
	SY/SY	148 a	751 ab	295 ab	1186 a	9 a	13 a	0 a	81 a
	GR/GR	67 a	355 ab	442 ab	67 a	11 a	13 a	3 a	67 a
Water deficit	RGM/RGM	884 a	421 ab	612 ab	111 a	297 ab	48 cde	40 c	347 ab
	SY/RGM	555 a	295 a	356 ab	530 a	229 ab	64 e	30 abc	276 ab
	GR/RGM	179 a	336 a	497 ab	80 a	114 ab	47 bcde	20 abc	208 ab
	41B/41B	417 a	422 ab	278 ab	60 a	234 ab	28 abcd	5 a	344 ab
	SY/41B	1070 a	263 a	386 ab	532 a	356 ab	44 bcde	9 abc	735 ab
	GR/41B	1523 a	640 ab	630 ab	128 a	283 ab	38 abcde	7 ab	573 ab
	SY/SY	566 a	336 a	188 a	339 a	372 ab	48 de	18 abc	1708 c
	GR/GR	1309 a	1392 b	1780 ab	447 a	622 b	34 abcde	38 bc	1214 bc

Tableau S4.VII- Mean of ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R) of combination studied in experiment n°3 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each metabolites. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD).

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
p-value	Combinaison	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0045	< 0.0001	0.4711	0.0260	< 0.0001
	Traitement	< 0.0001	0.9363	0.3277	0.2081	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	0.0027	0.7692	0.0762	0.6125	< 0.0001	0.0966	0.0107	0.0007
Combinaison scion/ rootstock	SO4/SO4	750 ab	1015 ab	668 ab	125 a	94 ab	54 a	7 ab	134 a
	SY/SO4	439 a	490 a	510 ab	692 a	85 ab	50 a	6 a	125 a
	GR/SO4	254 a	602 a	946 ab	181 a	52 a	43 a	6 a	102 a
	161-49/161-49	409 a	1355 bc	715 ab	98 a	103 ab	46 a	5 a	184 a
	SY/161-49	370 a	496 a	400 ab	647 a	47 a	38 a	7 ab	143 a
	GR/161-49	440 a	737 ab	2227 c	451 a	115 ab	39 a	9 ab	165 a
	140Ru/140Ru	1209 b	1972 c	966 ab	158 a	298 c	40 a	28 b	851 bc
	SY/140Ru	342 a	467 a	602 ab	400 a	63 ab	61 a	6 a	222 a
	GR/140Ru	699 a	693 a	1453 bc	259 a	215 bc	41 a	15 ab	335 ab
	SY/SY	396 a	734 ab	319 a	732 a	131 ab	48 a	10 ab	931 c
Treatment	Well-watered	259 a	853 a	956 a	429 a	12 a	24 a	4 a	101 a
	Water deficit	803 b	860 a	806 a	319 a	229 b	68 b	16 b	537 b

		ABA-L	ABA-GE-L	PA-L	DPA-L	ABA-R	ABA-GE-R	PA-R	DPA-R
Well-watered	SO4/SO4	578 abc	968 abc	580 a	119 a	9 a	19 a	2 a	40 a
	SY/SO4	232 ab	460 a	380 a	842 a	7 a	23 ab	2 a	31 a
	GR/SO4	90 a	627 ab	991 a	183 a	17 a	37 abc	6 a	60 a
	161-49/161-49	235 ab	1543 bcd	713 a	96 a	13 a	31 ab	3 a	81 a
	SY/161-49	214 ab	461 a	305 a	592 a	11 a	22 ab	5 a	71 a
	GR/161-49	223 ab	805 ab	3200 b	653 a	8 a	17 a	8 a	66 a
	140Ru/140Ru	496 abc	2059 d	1034 a	148 a	10 a	16 a	2 a	45 a
	SY/140Ru	199 ab	459 a	763 a	394 a	12 a	21 ab	4 a	99 a
	GR/140Ru	125 ab	641 ab	1265 a	222 a	13 a	23 ab	6 a	120 a
	SY/SY	195 ab	504 ab	327 a	1043 a	20 a	28 ab	2 a	397 a
Water deficit	SO4/SO4	921 bc	1062 abcd	1641 ab	132 a	179 ab	89 cd	13 a	228 a
	SY/SO4	645 abc	519 ab	311 a	542 a	163 a	77 bcd	10 a	220 a
	GR/SO4	417 ab	578 ab	442 a	178 a	87 a	48 abcd	7 a	144 a
	161-49/161-49	583 abc	1167 abcd	494 a	99 a	193 ab	60 abcd	8 a	287 a
	SY/161-49	525 ab	532 ab	640 a	702 a	83 a	55 abcd	9 a	215 a
	GR/161-49	658 abc	669 ab	718 a	249 a	222 ab	62 abcd	10 a	263 a
	140Ru/140Ru	1922 d	1886 cd	757 a	167 a	585 c	63 abcd	54 b	1657 c
	SY/140Ru	485 abc	475 a	898 a	406 a	115 a	102 d	8 a	345 a
	GR/140Ru	1273 cd	745 ab	901 a	297 a	417 bc	59 abcd	25 ab	549 ab
	SY/SY	597 abc	964 abc	1255 a	420 a	242 ab	68 abcd	18 a	1465 bc

Tableau S4.VII- Pearson correlation matrice on soil water content (SWC), predawn and stem Water Potential (WP) and ABA, ABA-GE, PA and DPA in leaves (-L) and root tips (-R). Bolded values are significant ($p < 0.05$)

Variables	SWC	Predawn WP	Stem WP	DPA-L	ABA-GE-L	PA-L	ABA-L	DPA-R	ABA-GE-R	PA-R	ABA-R
SWC	**1**	**0.458**	**0.792**	0.055	-0.004	0.010	**-0.592**	**-0.524**	**-0.606**	**-0.531**	**-0.718**
Predawn WP	**0.458**	**1**	**0.516**	-0.051	**-0.260**	**-0.223**	**-0.571**	**-0.484**	**-0.165**	**-0.354**	**-0.491**
Stem WP	**0.792**	**0.516**	**1**	0.003	-0.153	0.021	**-0.644**	**-0.627**	**-0.533**	**-0.536**	**-0.745**
DPA-L	0.055	-0.051	0.003	**1**	0.055	**0.198**	0.029	0.084	-0.063	0.006	0.021
ABA-GE-L	-0.004	**-0.260**	-0.153	0.055	**1**	**0.318**	**0.312**	**0.168**	0.055	**0.172**	**0.194**
PA-L	0.010	**-0.223**	0.021	**0.198**	**0.318**	**1**	**0.241**	0.077	-0.041	0.143	**0.179**
ABA-L	**-0.592**	**-0.571**	**-0.644**	0.029	**0.312**	**0.241**	**1**	**0.524**	**0.452**	**0.615**	**0.771**
DPA-R	**-0.524**	**-0.484**	**-0.627**	0.084	**0.168**	0.077	**0.524**	**1**	**0.310**	**0.587**	**0.700**
ABA-GE-R	**-0.606**	**-0.165**	**-0.533**	-0.063	0.055	-0.041	**0.452**	**0.310**	**1**	**0.707**	**0.599**
PA-R	**-0.531**	**-0.354**	**-0.536**	0.006	**0.172**	0.143	**0.615**	**0.587**	**0.707**	**1**	**0.798**
ABA-R	**-0.718**	**-0.491**	**-0.745**	0.021	**0.194**	**0.179**	**0.771**	**0.700**	**0.599**	**0.798**	**1**

Chapitre 5 : Effet du greffage sur les déterminants moléculaires de la régulation du flux transpiratoire

I- Introduction

La communication entre le système racinaire et le système foliaire est essentielle à la plante afin de moduler ses pertes en eau en fonction de la ressource hydrique disponible. Dans le cas d'une plante greffée, les mécanismes d'absorption et de transpiration sont sous le contrôle de deux génotypes distincts, augmentant la complexité de la régulation des flux hydriques. Au niveau de la plante entière, un signal chimique l'ABA, et un signal hydraulique d'origine racinaire sont impliqués dans le contrôle de la fermeture stomatique. Le rôle respectif de chacun d'eux reste toujours en débat, et en particulier en situation greffée.

Chez plusieurs espèces, le porte-greffe est capable de moduler la teneur en ABA au niveau foliaire ou du xylème (Soar et al., 2006a; Albacete et al., 2009; Allario et al., 2013). Chez la tomate en situation de stress salin, la concentration en ABA dans le xylème du greffon est plus élevée chez les porte-greffes tolérants que chez les sensibles. Chez le citronnier et la tomate, cet effet n'est observé qu'en situation non contrainte et est associé à une diminution de la transpiration du greffon (Allario et al., 2013; Thompson et al., 2007b). Chez la vigne des différences ont également été mises en évidence au niveau des teneurs en ABA xylémien pour un même greffon associé à différents porte-greffes (Soar et al., 2006a). Mais les différences observées entre combinaisons greffon-porte-greffe pourraient être davantage associées à des niveaux de stress hydrique variables qu'à des capacités de synthèse génotype-dépendantes, notamment en raison des effets du porte-greffe sur le développement racinaire (offre en eau) ou le développement végétatif aérien (demande en eau ; Jones, 2012). Cependant, Allario et al., (2013) suggère que le niveau d'ABA en situation non contrainte permettrait une pré-acclimatation des plantes au déficit hydrique. Des différences entre porte-greffes de vigne ont aussi été mises en évidence concernant les profils d'expression racinaires d'aquaporines en situation non greffée (Fouquet, 2005) et greffée (Gambetta et al., 2012). Des gènes impliqués dans le métabolisme de l'ABA et codant des aquaporines de type PIP et TIP ont été retrouvés dans l'intervalle de confiance de QTLs contrôlant l'effet du porte-greffe sur la transpiration d'une vigne greffée en situation de contrainte hydrique (Marguerit et al., 2012). Mais aucune analyse n'a été conduite en faisant varier à la fois le génotype du greffon et celui du porte-greffe.

Pour plusieurs espèces modèles, l'utilisation de mutants pour la synthèse d'ABA ou de lignées transgéniques sur-accumulant l'ABA dans des expérimentations de greffage a conduit à formuler des hypothèses sur la part relative de chacun des signaux dans le contrôle transpiratoire (Borel et al., 2001 ; Holbrook et al., 2002 ; Thompson et al., 2007; Christmann et al., 2007; Pantin et al., 2013). Ainsi certains auteurs questionnent le rôle direct de l'ABA racinaire sur le contrôle de l'ouverture stomatique (Holbrook et al., 2002; Dodd et al., 2009; Christmann et al., 2007). La surproduction d'ABA racinaire pourrait faire varier la conductivité hydraulique du tissu (Thompson et al., 2007b; Parent et al., 2009), via son action sur l'expression et l'activité des aquaporines (Parent et al., 2009). Ce signal hydraulique (ou un autre signal chimique) transmis vers les parties aériennes permettrait la synthèse d'ABA foliaire qui suffirait au contrôle stomatique. Le signal hydraulique serait nécessaire à l'action foliaire de l'ABA sur les stomates (Christmann et al., 2007). Cependant au niveau foliaire, l'ABA joue également un rôle sur la conductance hydraulique du tissu (Shatil-Cohen et al., 2011 ; Pantin et al., 2013) complexifiant les relations entre ABA et conductivité hydraulique des différentes parties de la plante. Ces travaux montrent qu'une cascade de signaux de différente nature intervient certainement entre les parties racinaires et les feuilles pour contrôler l'ouverture stomatique. La manière dont ces signaux sont coordonnés entre 2 génotypes à l'échelle de la plante entière est certainement importante pour expliquer le rôle du porte-greffe dans la régulation de la transpiration.

L'objectif des expérimentations décrites dans ce chapitre est d'identifier des déterminants moléculaires potentiellement explicatifs du rôle des différents génotypes associés dans une vigne greffée en lien avec la signalisation ABA et hydraulique entre partie racinaire et partie aérienne. Une analyse transcriptomique portant sur 12 gènes impliqués dans le métabolisme et de la signalisation de l'ABA et 7 gènes codant des aquaporines de type PIP a été mise en œuvre au niveau foliaire et racinaire pour 23 combinaisons de greffon/porte-greffe en situation de contrainte hydrique. Les effets génotypes de greffon, de porte-greffe et leur interaction ont été analysés pour chaque groupe de gènes séparément en situation non contrainte et en situation de déficit hydrique. Le lien au niveau de la réponse transcriptionnelle des deux groupes de gènes fera l'objet de la discussion.

II- Matériel et méthodes

Dans ce chapitre, les échantillons étudiés sont constitués des feuilles et des pointes racinaires prélevées en situation non contrainte (Jour 7) et de déficit hydrique (Jour 11) décrit lors du chapitre précédent.

II-1. Extraction d'ARN totaux et RT-PCR

L'extraction des ARN totaux sur ces échantillons, les étapes nécessaires à l'obtention des ADNc ainsi que le mix de réaction qPCR ont été conduites de manière identique à la description faite au chapitre 2. L'analyse transcriptomique a été réalisée sur la plateforme génome transcriptome de Bordeaux (PGTB) sur le site de l'INRA de Pierroton. Les ADNc et le mix de réaction ont été déposés à l'aide d'un robot (Starlet Hamilton) sur des plaques 384 puits. La réaction de RT-PCR a été effectuée sur un thermocycleur LightCycler 480 (Roche), et le cycle seuil (Ct) utilisé pour calculer l'expression relative selon la méthode du $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak and Schmittgen, 2001) en prenant la moyenne géométrique des gènes *VviGAPDH*, *VviEF1γ* et *VviActin* comme référence (Reid et al., 2006). Les amorces RT-PCR utilisées sont identiques à celles décrites aux chapitres 2 et 3. L'ensemble des échantillons n'a pu être analysé. Seul un triplicata biologique par combinaison greffon/porte-greffe présentant les potentiels hydriques de tige à la récolte les plus similaires a été étudié en situation irriguée le jour 7 (Well-watered) et après l'application du déficit hydrique au jour 11 (Without irrigation). Ces échantillons sont identiques à ceux utilisés lors des dosages de métabolites.

II-2. Analyses statistiques

Les analyses de variance réalisées sur le niveau des transcrits sont détaillées au fur et à mesure dans la partie résultat. Les effets sont considérés comme significatifs au seuil de 5%, et les comparaisons multiples ont été réalisées par un test de Tukey (HSD). Il est important de noter que l'ensemble des combinaisons possibles avec les génotypes utilisés n'a pas été étudié (par exemple RGM/SY). L'analyse de variance montrant des effets porte-greffes sur les génotypes SY et GR et des effets greffon sur les génotypes RGM, 101-14, SO4, 161-49, 41B, 110R et 140Ru correspond à la comparaison des homogreffes respectives avec les autres combinaisons. Les analyses de variance, les analyses en composantes principales (ACP), les analyses discriminantes ainsi que les coefficients de corrélation de Pearson ont été établis à l'aide du logiciel XLStat (Addinsoft SARL., Paris, France). Ce logiciel a également permis de générer les analyses de similarité entre les variables, en utilisant la méthode d'assemblage par la moyenne des coefficients de Pearson. Les cartes de chaleurs ont été générées à l'aide du logiciel R v.2.15.3 (R Development Core Team, 2008).

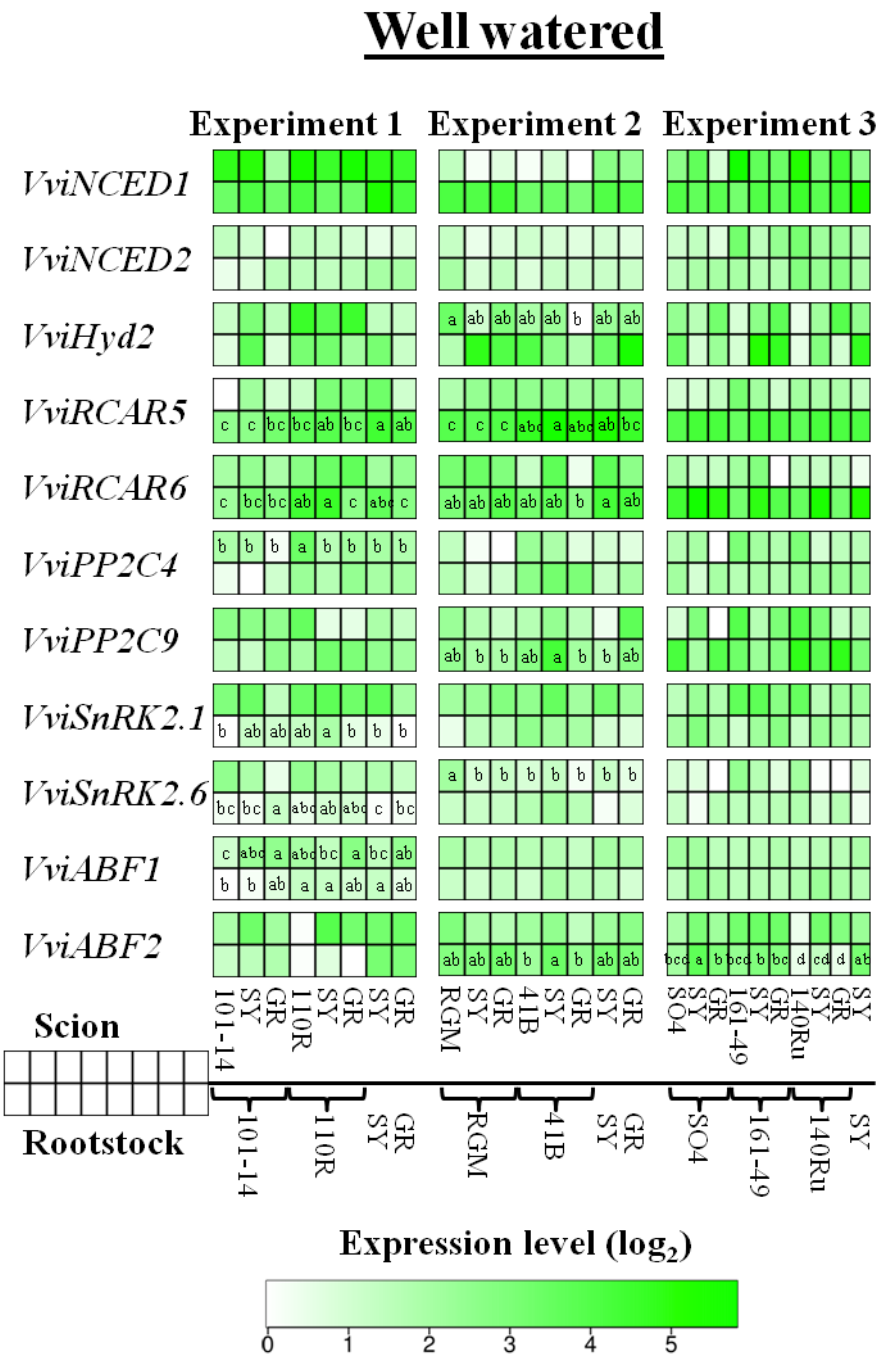


Figure 5.1- Heat maps of the transcript abundance for the genes associated with abscisic acid (ABA) metabolism in the leaves and roots of 23 scion/rootstock combinations in well-watered conditions. Green shade indicates the level of expression relative to the lowest value for each experiment (n = 3). Letters were added when the scion - rootstock interaction was significant according to a two-way ANOVA ($p < 0.05$). Combinations with the same letter for root and leaves are not statistically different (Tukey-HSD).

III- Résultats

III-1. Analyses transcriptomiques liées au métabolisme et à la signalisation de l'ABA

III-1.1. Situation non contrainte

III-3.1.1. Présentation globale du niveau de transcrits

Le niveau d'expression des transcrits est présenté sous forme de cartes de chaleur pour les 3 expérimentations en situation non contrainte (Figure 5.1). L'expression du gène *VviHyd1* étant trop faible pour être détectée dans les conditions de RT-PCR au niveau racinaire et foliaire, elle ne sera pas décrite dans ce chapitre. L'analyse de variance effectuée sur l'expression des gènes au niveau foliaire et racinaire en fonction du génotype de greffon, de porte-greffe et de leur interaction est présentée en données supplémentaires (Tableau S5.I-III). Les résultats obtenus pour les effets d'interaction du greffon et du porte-greffe sont présentés au sein des cartes de chaleur (Figure 5.1)

L'analyse détaillée des résultats de l'ANOVA sur les effets greffon, porte-greffe et leur interaction ne sera pas présentée de manière détaillée. Les éléments majeurs à retenir sont les suivants. Les effets greffon, porte-greffe et de leur interaction sont plus accentués dans l'expérimentation n°1 par rapport aux expérimentations n°2 et n°3. Dans les trois expérimentations, un effet significatif est observé (greffon et/ou porte-greffe) pour l'expression foliaire des gènes *VviPP2C9* et *VviSnRK2.6* et pour l'expression racinaire des gènes *VviRCAR6* et *VviABF2*.

L'expression foliaire des gènes est principalement affectée par le génotype du greffon alors que l'expression racinaire est largement dépendante du génotype de porte-greffe. Globalement, l'expression des gènes au niveau racinaire présente plus d'effets significatifs qu'au niveau foliaire. Au niveau du comportement des génotypes, on note surtout que l'expression foliaire et racinaire du gène *VviABF2* est très faible pour les génotypes 110R et 140Ru.

III-3.1.2. Analyses factorielles discriminantes

L'abondance des transcrits évaluée en situation non contrainte a été soumise à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du greffon" (Figure 5.2). Au total 57% de la variabilité est représentée par les axes F1 et F2 (Figure 5.2A). L'axe F1 est expliqué principalement du côté positif par les transcrits *VviNCED2*, *VviPP2C4*, *VviPP2C9* et *VviSnRK2.6* au niveau foliaire.

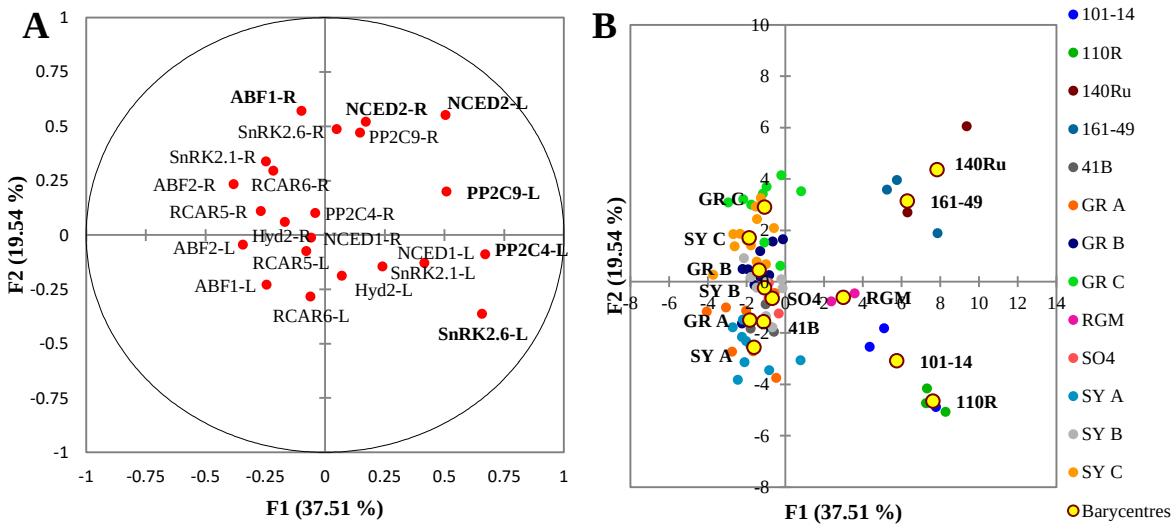


Figure 5.2- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable. The analysis was performed on transcript abundance data for ABA-related genes in well-watered conditions for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

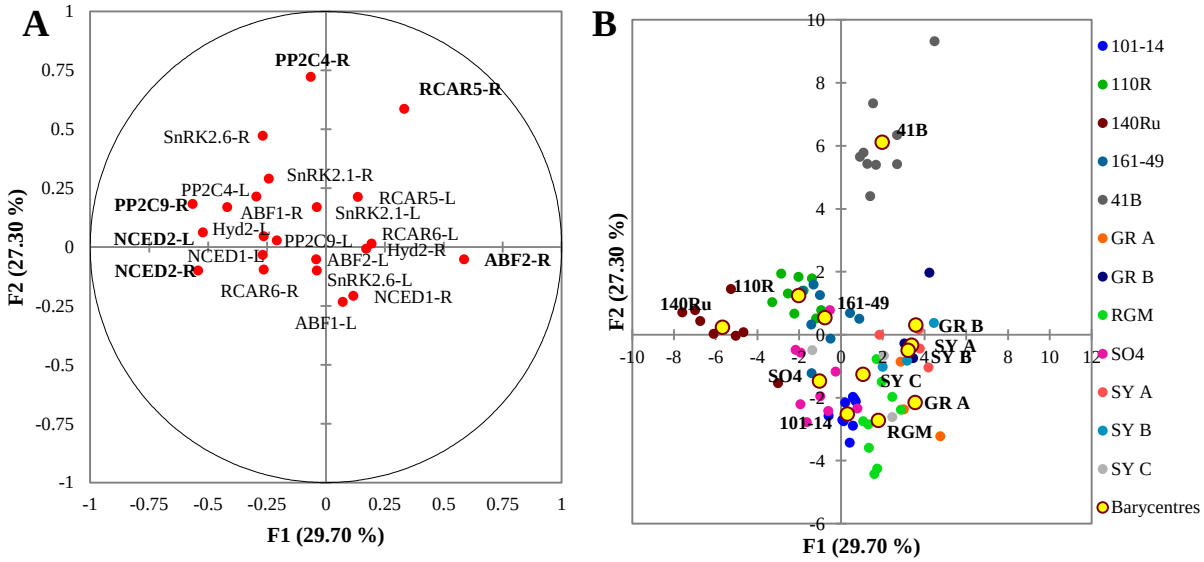


Figure 5.3- Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. The analysis was performed on transcript abundance data for ABA-related genes in well-watered conditions for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated**.** For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

L'axe F2 est expliqué principalement du côté positif par les transcrits *VviABF1* et *VviNCED2* au niveau racinaire et *VviNCED2* au niveau foliaire. La représentation des individus permet de discriminer trois groupes de combinaisons (Figure 5.2B). L'axe F1 discrimine les homogreffes RGM/RGM, 101-14/101-14, 161-49/161-49, 110R/110R et 140Ru/140Ru (côté positif de l'axe F1) de l'ensemble des autres combinaisons (côté négatif de l'axe F1, mais plutôt vers le centre). Les combinaisons ayant comme greffon 161-49 et 140Ru se regroupent dans la partie positive de l'axe F1 et F2. Les homogreffes avec les génotypes 101-14 et 110R se situent dans la partie positive de l'axe F1 et la partie négative de l'axe F2. Les hétérogreffes avec les greffons SY et GR et les homogreffes SO4/SO4 et 41B/41B ne sont pas discriminés entre eux.

L'expression des gènes en situation non contrainte a également été soumise à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du porte-greffe" (Figure 5.3). Au total 57% de la variabilité est représentée par les axes F1 et F2 (Figure 5.3A). L'axe F1 est expliqué du côté positif par les transcrits *VviABF2* dans les racines et du côté négatif par le transcrit *VviPP2C9* dans les racines et par le transcrit *VviNCED2* dans les racines et les feuilles. L'axe F2 est expliqué principalement du côté positif par les transcrits *VviPP2C4* et *VviRCAR5* dans les racines. La représentation des individus sur le plan factoriel montre que l'axe F1 discrimine les combinaisons ayant pour porte-greffe RGM, 101-14, SY et GR (côté positif) de celles avec 140Ru comme porte-greffe (côté négatif) (Figure 5.3B). L'axe F2 discrimine principalement les combinaisons ayant pour porte-greffe 41B (côté positif) de celles avec RGM, 101-14 et SY (côté négatif). Les combinaisons ayant pour porte-greffe SO4, 161-49 et 110R se situent plutôt au centre du plan F1 x F2 et sont mal discriminées.

Les résultats fournis par les deux analyses discriminantes (Figure 5.2 et 5.3) illustrent les résultats de l'analyse de variance précédente (Tableau S5.I-III) où les principales variables discriminant le génotype de greffon se situent au niveau foliaire alors que celles discriminant le génotype de porte-greffe se situent au niveau racinaire. De plus il est intéressant de noter que le regroupement des génotypes n'est pas le même au niveau foliaire qu'au niveau racinaire.

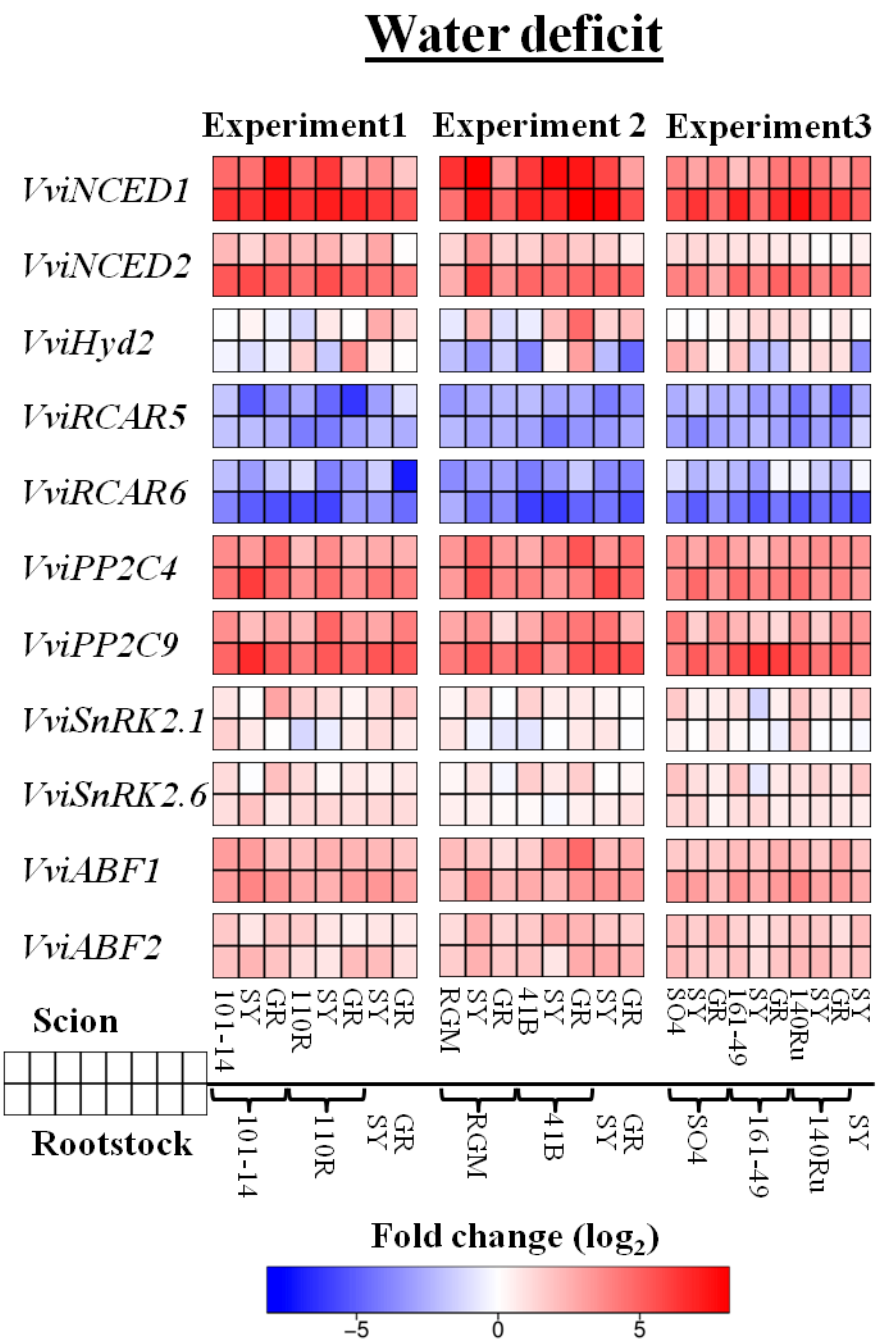


Figure 5.4- Heat maps of transcript abundance changes from well-watered to water deficit condition for leaves and root tips. The blue and red shades indicate the extent of gene repression and induction respectively (n = 3). Blocks of squares show the level of gene expression in the leaves and roots of the 23 different scion/rootstock combinations for each gene studied.

III-1.2. Situation de déficit hydrique

III-1.2.1. Présentation globale du niveau de transcrits

Le niveau d'expression des gènes en situation de déficit hydrique est illustré par des cartes de chaleur (Figure 5.4) représentant le niveau d'induction de chaque gène par rapport à la situation non contrainte au niveau foliaire et racinaire. Une analyse de variance a également été réalisée séparément sur chaque tissu afin de rechercher un effet du traitement hydrique, de la combinaison greffon/porte-greffe et de leur interaction. Les résultats de l'analyse sont disponibles dans les données supplémentaires (pour les feuilles Tableau S5.IV-VI, pour les pointes racinaires S5.7-9). Les résultats ne seront pas décrits en détail, mais les observations majeures seront commentées au niveau foliaire puis racinaire.

L'ensemble des gènes étudiés au niveau foliaire sont affectés significativement par le déficit hydrique appliqué au cours des trois expérimentations à l'exception du gène *VviHyd2* qui est affecté significativement uniquement pour l'expérimentation n°2. Les gènes *VviNCED1, VviNCED2, VviHyd2* (expérimentation n°2), *VviPP2C4, VviPP2C9, VviSNRK2.1, VviSnRK2.6, VviABF1* et *VviABF2* sont induits alors que les gènes *VviRCAR5* et *VviRCAR6* sont réprimés au cours du déficit hydrique. Pour les trois expérimentations, le gène *VviNCED1* présente le plus haut taux d'induction (33 en moyenne) alors que les gènes *VviNCED2, VviSnRK2.1, VviSnRK2.6* et *VviABF2* présentent les plus faibles taux d'induction (moins de 5 pour chacun des gènes).

Au niveau foliaire et pour les trois expérimentations, l'analyse de variance sur l'expression des transcrits a permis de mettre en évidence des effets significatifs de la combinaison greffon-porte-greffe et de l'interaction avec le traitement hydrique. Cependant ces effets sont le plus souvent expliqués par une seule combinaison greffon/porte-greffe par gène, et celle-ci varie en fonction des gènes. Il faut noter qu'en condition de déficit hydrique la combinaison 140Ru/140Ru présente le niveau d'expression le plus élevé pour les gènes *VviNCED1, VviPP2C4* et *VviPP2C9*.

Au niveau racinaire et pour les trois expérimentations, les transcrits étudiés à l'exception de *VviHyd2* et *VviSnRK2.1* sont tous significativement affectés par le traitement hydrique. De la même manière qu'au niveau foliaire, les transcrits racinaires des gènes *VviNCED1, VviNCED2, VviPP2C4, VviPP2C9, VviSnRK2.6, VviABF1* et *VviABF2* sont induits alors que les transcrits *VviRCAR5* et *VviRCAR6* sont réprimés. Cependant le niveau d'induction ou de répression des gènes *VviNCED1, VviNCED2, VviRCAR6, VviPP2C4* et *VviPP2C9* est beaucoup plus important dans les racines que dans les feuilles. Le niveau d'induction des transcrits racinaires *VviSnRK2.6* et *VviABF2* est faible et équivalent à celui des feuilles.

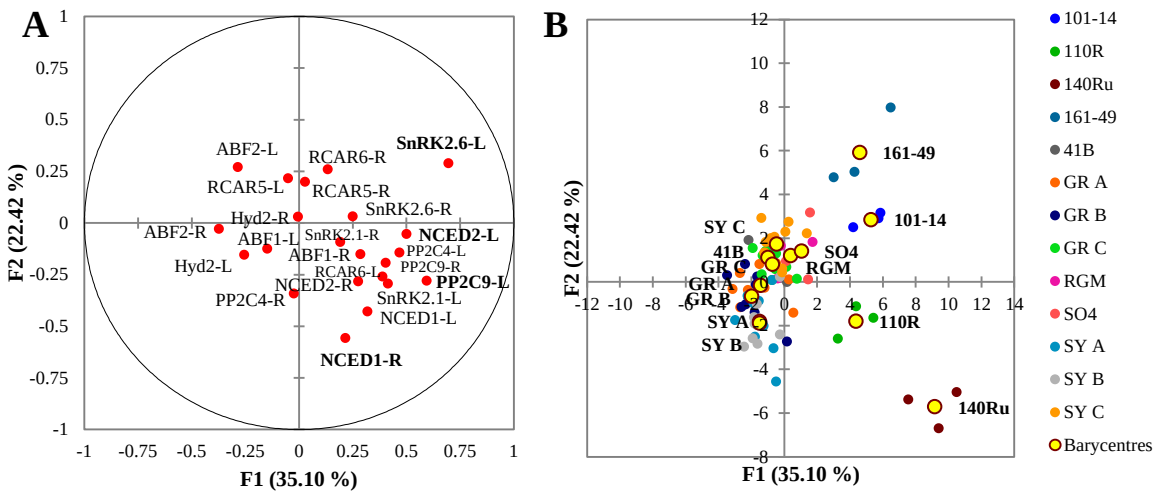


Figure 5.5- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable. The analysis was performed on transcript abundance data for ABA-related genes in water deficit conditions for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

Globalement l'analyse de variance sur les transcrits racinaires permet de mettre en évidence des effets de la combinaison greffon/porte-greffe, mais aussi de l''interaction avec le traitement hydrique. L'expérimentation n°1 présente beaucoup moins d'effet significatif, mais au cours des trois expérimentations un effet significatif de la combinaison est retrouvé pour l'expression des gènes *VviRCAR6, VviSnRK2.6* et *VviABF2*; le gène *VviRCAR6* est soumis également à une interaction sur les trois expérimentations. Pour les expérimentations n°2 et n°3, un effet significatif de la combinaison greffon/porte-greffe et de l'interaction combinaison x traitement hydrique est mis en évidence pour les gènes *VviNCED1, VviNCED2*. Un effet significatif de la combinaison est mis en évidence pour le gène *VviABF1*. Cette analyse permet de discriminer différentes combinaisons greffon/porte-greffe et notamment la combinaison SY/SY lors de l'expérimentation n°2. Celle-ci est caractérisée par une forte abondance des transcrits *VviNCED1, VviABF1* et *VviABF2* et une faible abondance du transcrit *VviSnRK2.6.* Ces observations sont vérifiées pour les gènes *VviSNRK2.6* et *VviABF2* au cours des trois expérimentations. La combinaison 140Ru/140Ru ressort également de l'analyse avec le plus haut niveau des transcrits *VviNCED1, VviNCED2, VviPP2C9, VviSnRK2.6* et *VviABF1*. Finalement l'ensemble des combinaisons avec le porte-greffe 110R présente un faible niveau du transcrit *VviABF2*.

III-1.2.2. Analyses factorielles discriminantes

Les données d'expression des gènes étudiés au niveau foliaire et racinaire en situation de déficit hydrique ont été soumises à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du greffon" (Figure 5.5). Au total 57,5 % de la variabilité est représentée par les axes F1 et F2 (Figure 5.5A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par l'abondance des transcrits *VviNCED2, VviPP2C9* et *VviSnRK2.6* au niveau foliaire alors que l'axe F2 est principalement expliqué du côté négatif par l'abondance du transcrits *VviNCED1* au niveau racinaire. La représentation des individus sur le plan factoriel F1 x F2 (Figure 5.5B) permet de discriminer trois groupes de génotypes de greffon. L'axe F1 discrimine les homogreffes avec 101-14, 161-49, 110R et 140Ru (côté positif) de l'ensemble des autres combinaisons qui sont situées au centre du plan factoriel (pour les 2 axes). L'axe F2 discrimine les homogreffes 101-14 et 161-49 (côté positif) des homogreffes 110R et 140Ru (côté négatif). Cette analyse apporte les même résultats de dispersion des individus qu'en situation non contrainte (Figure 5.2B), cependant les variables explicatives ne sont pas les mêmes.

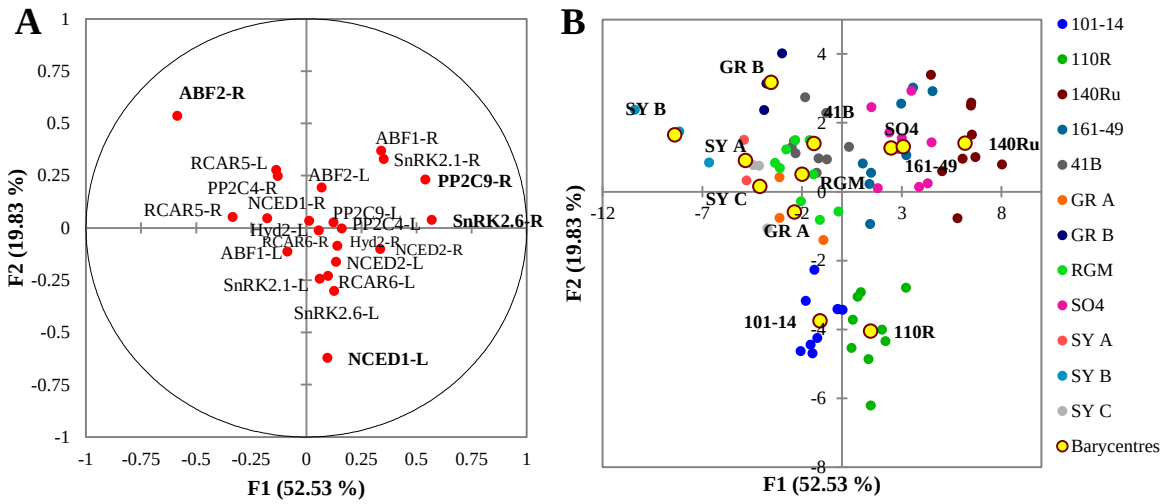


Figure 5.6- Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. The analysis was performed on transcript abundance data for ABA-related genes in water deficit condition for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

Les données d'expression des gènes étudiés au niveau foliaire et racinaire en situation de déficit hydrique ont été soumises à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du porte-greffe" (Figure 5.6). Au total 72.4 % de la variabilité est représentée par les axes F1 et F2 (Figure 5.6A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par l'abondance des transcrits *VviPP2C9* et *VviSnRK2.6* au niveau racinaire et du côté négatif par le transcrit *VviABF2* également au niveau racinaire. L'axe F2 est principalement expliqué du côté positif par l'abondance du transcrit *VviABF2* au niveau racinaire et du côté négatif par l'abondance du transcrit *VviNCED1* au niveau foliaire. La distribution des individus sur le plan factoriel (Figure 5.6B) permet de constituer trois groupes. L'axe F1 discrimine les combinaisons ayant comme porte-greffe SO4, 161-49 et 140Ru (côté positif), toutes faisant partie de l'expérimentation n°3, et les combinaisons avec le porte-greffe SY (côté négatif). L'axe F2 discrimine les combinaisons avec les porte-greffes 101-14 et 110R (côté négatif), toutes deux faisant parties de l'expérimentation n°1. Il ressort globalement de cette analyse qu'en situation de déficit hydrique la dispersion des combinaisons semble expliquée par les expérimentations plutôt que par un effet des porte-greffes, avec cependant un comportement distinct de SY et GR qui se positionnent pour les 3 expérimentations plutôt du côté négatif de l'axe F1 et positif de l'axe F2.

III-1.3. Analyse globale des transcrits liés à l'ABA

L'ensemble des données transcriptomiques pour les gènes liés au métabolisme et à la signalisation ABA recueillies dans cette expérimentation ont été soumises à une analyse en composante principale conjointe pour les trois expérimentations (Figure 5.7). Au total 48,5 % de la variabilité est représentée par les axes PC1 et PC2 (Figure 5.7A). L'axe PC1 est principalement expliqué du côté positif par l'expression foliaire et racinaire de *VviNCED1, VviNCED2, VviPP2C4, VviPP2C9* et *VviABF1* et par l'expression racinaire du gène *VviSnRK2.6*. Du côté négatif cet axe est expliqué par l'expression racinaire et foliaire de *VviRCAR5* et *VviRACCR6*. L'axe PC2 est principalement expliqué du côté positif par l'expression foliaire de *VviSnRK2.1* et *VviSNRK2.6* et du côté négatif par l'expression racinaire de *VviABF2*.

La distribution des individus selon le plan PC1 x PC2 est représentée par le barycentre de chaque combinaison en situation non limitante et en situation de déficit hydrique (Figure 5.7B).

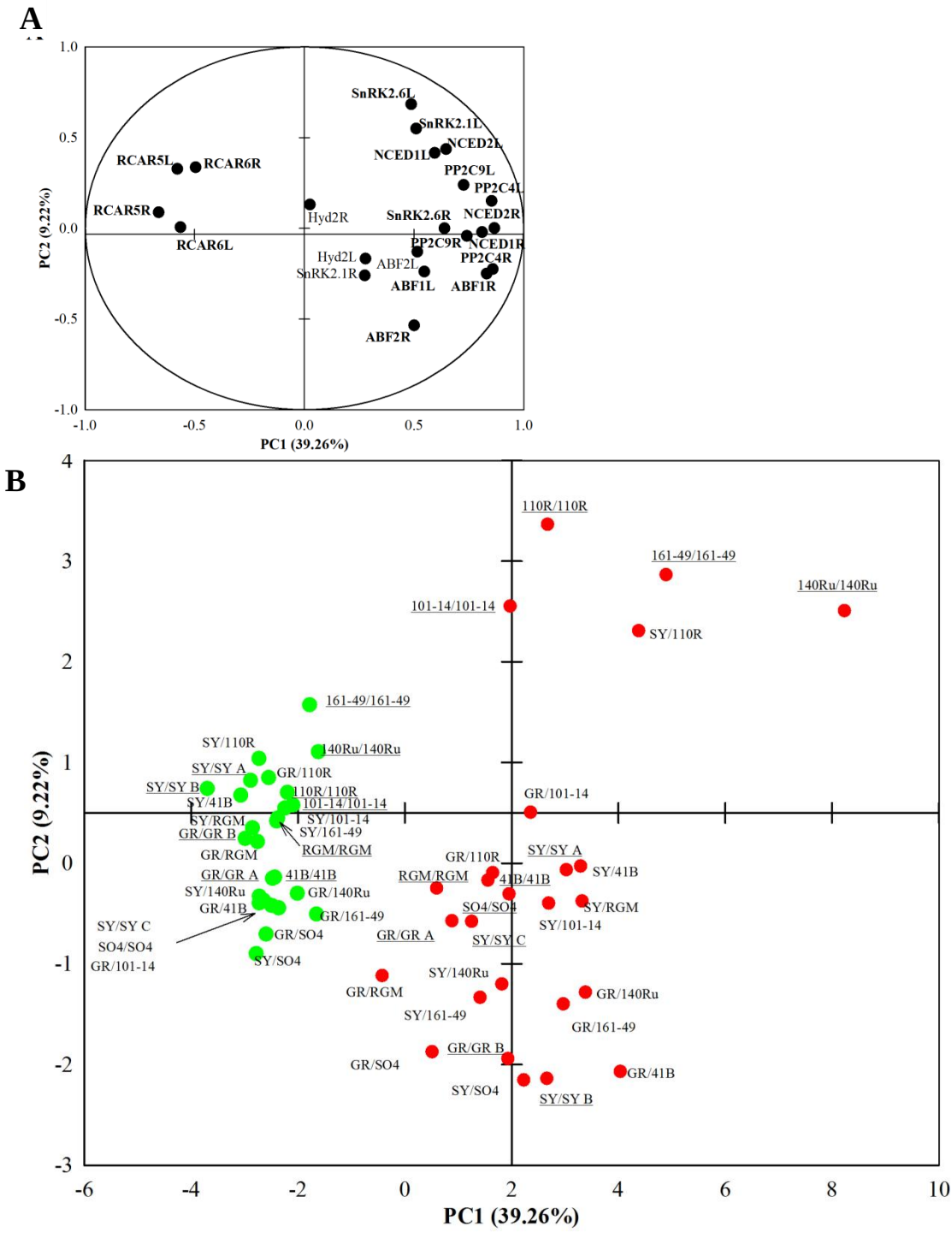


Figure 5.7- Principal component analysis on ABA-related genes. The analysis was performed on transcript abundance data for ABA-related genes in well-watered and water deficit conditions for leaves (L) and root tips (R). A: Representation of the contribution of variables to the principal components PC1 and PC2. The transcript names highly correlated to the principal component (R>0.5) are bolded. B: Plot of barycenter for each combination in well-watered (green dot) and water deficit (red dot) for the two principal components PC1 and PC2.The homografts are underlined. For SY/SY and GR/GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

Globalement, cette analyse permet de mettre en évidence que la variabilité entre combinaisons est d'abord expliquée par le traitement hydrique selon la première composante PC1 qui est définie, rappelons-le, par un ensemble de gènes présentant des changements significatifs au niveau foliaire et racinaire pour les trois expérimentations (Tableau S5.IV-IX). La deuxième observation qui peut être faite est que la variabilité est beaucoup plus importante en situation de déficit hydrique qu'en situation non contrainte. Par exemple on constate que la dispersion des barycentres des combinaisons SY/SY et GR/GR est relativement faible en situation non contrainte alors qu'elle est plus importante en situation de déficit hydrique et que les répétitions se distribuent alors le long de la composante PC2. Le troisième constat est que la position des homogreffes par rapport aux hétérogreffes avec d'autres génotypes est très variable, dans les deux conditions hydriques. Par exemple en situation non contrainte, les hétérogreffes avec comme greffon SY et GR et porte-greffes RGM, SO4 et 110R sont relativement proches des homogreffes alors que pour 161-49 et 140Ru, les hétérogreffes sont relativement éloignées des homogreffes. Finalement on notera qu'en situation non contrainte, la composante PC2 discrimine principalement les homogreffes avec 101-14, 161-49, 110R et 140Ru par rapport aux autres combinaisons. Cet axe est défini par quelques gènes dont l'expression foliaire a déjà permis de discriminer ces génotypes (Figure 5.2 et 5.5) en particulier *VviSnRK2.6*. En situation de déficit hydrique, les mêmes homogreffes et l'hétérogreffe SY/110R se distinguent de l'ensemble des autres combinaisons.

La matrice de corrélation résultant de l'analyse est disponible dans les données supplémentaires (Tableau S5.X) et a permis d'établir une analyse de similarité entre variables (Figure 5.8).

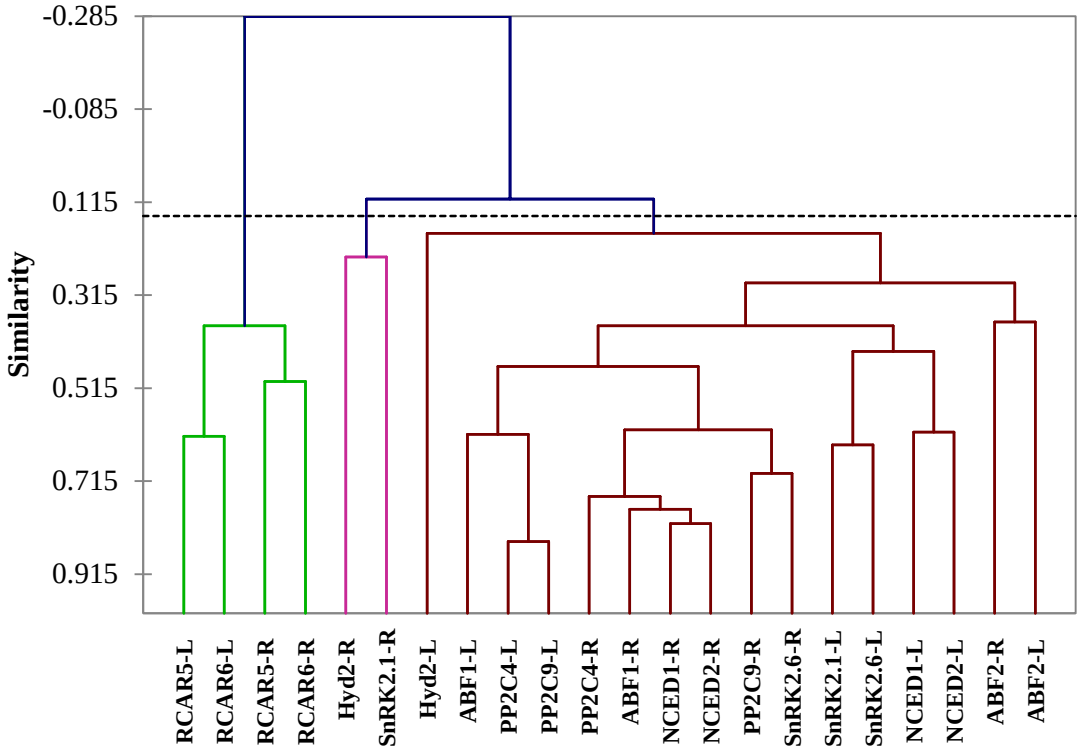


Figure 5.8- Tree of similarities between variables established from Pearson correlation coefficients of ABA-related genes in leaves (-L) and root tips (-R).

L'analyse de similarité permet d'identifier trois groupes de variables fortement liées entre elles. Le premier groupe est composé des gènes *VviRACR5* et *VviRACR6* au niveau foliaire et racinaire. Le second est composé des gènes *VviHyd2* et *VviSnRK2.1* au niveau racinaire. Le dernier groupe est composé de l'ensemble des autres variables et forme quatre sous-groupes. Cette analyse permet de révéler une corrélation forte entre le niveau de transcrits de l'ensemble des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA dans les racines et dans les feuilles. Cependant ces relations apparaissent beaucoup plus étroites au sein d'un même tissu qu'au niveau de la plante entière.

III-1.4. Conclusion sur l'étude transcriptomique lié au métabolisme et à la signalisation de l'ABA

Les différentes analyses réalisées dans cette partie permettent de tirer certaines conclusions sur l'expression des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA au sein de la plante greffée.

En situation non contrainte, le génotype de porte-greffe n'influence pas le niveau de transcrits que ce soit au niveau foliaire ou racinaire (Tableau S5.I-III). Cependant des différences sont observées en fonction des génotypes au niveau foliaire et racinaire (Figure 5.2-3) et les principaux gènes expliquant ces différences sont *VviNCED2, VviPP2C4, VviPP2C9, VviSnRK2.6* et *VviABF2*.

En situation de déficit hydrique la réponse foliaire et racinaire implique la régulation des mêmes gènes à l'exception de *VviSnRK2.1*, et la réponse est plus importante au niveau racinaire qu'au niveau foliaire (Tableau S5.IV-IX). Les gènes qui permettent le mieux de discriminer les génotypes en situation de déficit hydrique sont *VviNCED1, VviNCED2, VviPP2C9, VviSnRK2.6* et *VviABF2*.

Les génotypes RGM, SO4 et 41B présentent un comportement transcriptomique foliaire et racinaire proche des génotypes SY et GR en situation de greffon et de porte-greffe (Figure 5.7).

La réponse au déficit hydrique est globalement la même au niveau transcriptomique pour l'ensemble des génotypes, et la greffe ne semble pas influencer la réponse d'une manière fixe (Figure 5.7), cela apparait en lien avec une régulation transcriptomique plutôt locale que systémique (Figure 5.8).

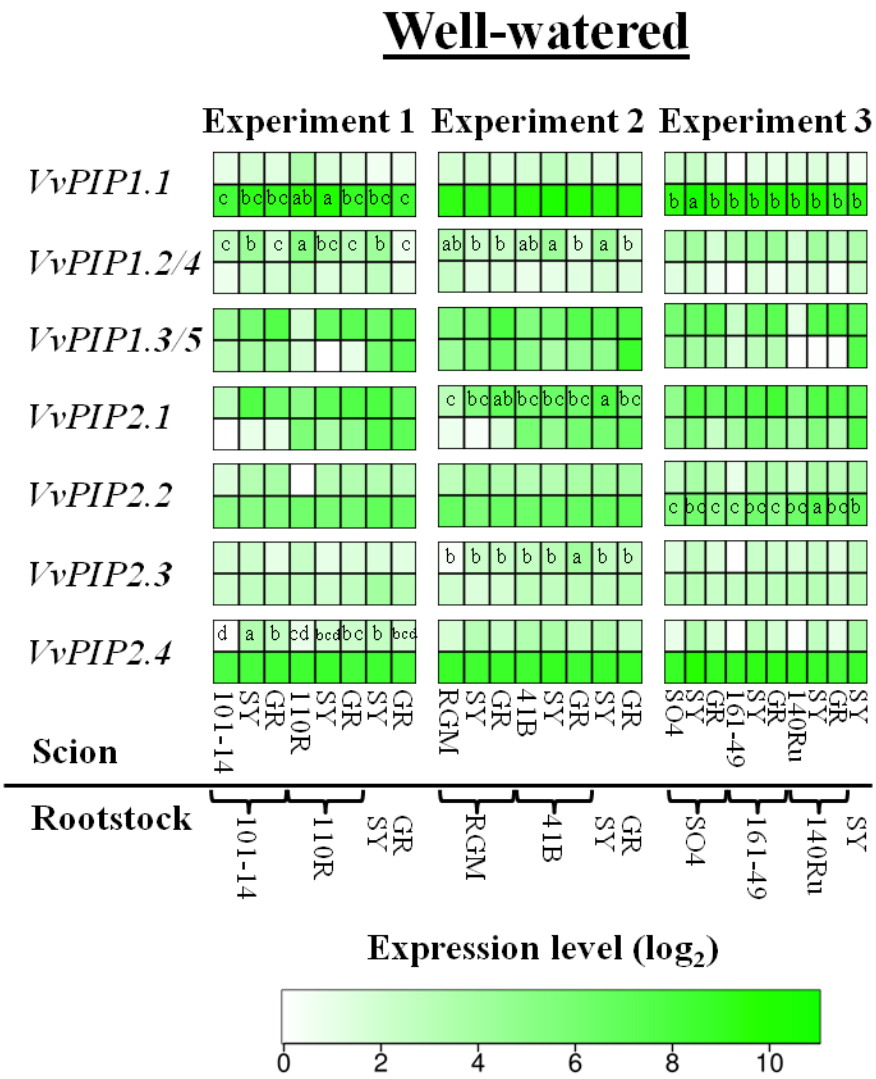


Figure 5.9- Heat maps of the transcript abundance for PIP genes studied in the leaves and roots of 23 combinations of scion/rootstock in well-watered conditions. Green shade indicates the level of expression relative to the lowest value for each experiment (n = 3). Letters were added when a significant effect was found for the interaction of scion and rootstock by a two-way ANOVA ($p < 0.05$). Combinations with the same letter for root and leaves are not statistically different (Tukey-HSD).

III-2. Analyses transcriptomiques liées aux aquaporines

III-2.1. Situation non contrainte

III-2.1.1. Présentation globale du niveau de transcrits

L‘abondance des transcrits *VviPIPs* étudiés est présenté sous forme de cartes de chaleur pour les trois expérimentations en situation non contrainte (Figure 5.9). L'analyse de variance effectuée sur le niveau de transcrits dans les feuilles et les racines en fonction du génotype de greffon, du porte-greffe et de leur interaction est présentée en données supplémentaires de manière séparée pour les trois expérimentations (Tableau S5.XI-XIII). Les résultats obtenus pour les effets de l'interaction greffon x porte-greffe sont présentés sur les cartes de chaleur (Figure 5.9).

Les résultats de l'ANOVA sur les effets greffon, porte-greffe et leur interaction ne seront pas présentés de manière détaillée. Quelques résultats majeurs sont soulignés. Dans les trois expérimentations, un effet significatif du greffon est observé pour l'expression foliaire des gènes *VviPIP1.2-4, VviPIP2.3* et *VviPIP2.4* et un effet significatif du porte-greffe est observé au niveau racinaire pour les gènes *VviPIP1.1, VviPIP1.3/5* et *VviPIP2.1*. L'analyse de variance montre qu'il y a moins d'effets significatifs au niveau foliaire au cours de l'expérimentation n°3, et au niveau racinaire au cours de l'expérimentation n°2. L'expression foliaire des gènes est principalement affectée par le génotype du greffon alors que l'expression racinaire est largement dépendante du génotype de porte-greffe. Finalement il ressort que l'expression au niveau racinaire est soumise à plus d'effets significatifs qu'au niveau foliaire.

Au niveau foliaire l’abondance des transcrits *VviPIP1.2/4,VviPIP1.3/5* et *VviPIP2.4* discrimine de manière significative les génotypes SY et GR entre eux pour l'expérimentation n°1 et n°2. Pour l'expérimentation n°3, seul *VviPIP2.4* permet cette discrimination. Le niveau d'expression de *VviPIP1.2/4* et de *VviPIP2.4* est plus élevé pour le génotype SY par rapport à GR alors que l'inverse est observé pour le gène *VviPIP1.3/5*. L'expression foliaire des aquaporines permet aussi de discriminer le greffon 110R, qui présente un niveau important de transcrits *VviPIP1.1, VviPIP1.2/4, VviPIP2.3* et un niveau très faible des transcrits *VviPIP1.3/5, VviPIP2.2* et *VviPIP2.4*. A l'exception de *VviPIP2.2*, on retrouve toujours le génotype 110R dans les catégories extrêmes de niveau d’expression.

Au niveau racinaire deux faits majeurs ressortent. Les génotypes RGM et 101-14 expriment très faiblement *VviPIP2.1* et sont significativement différents du GR. 110R et 140Ru se différencient de la même manière par rapport au génotype SY pour le gène *VviPIP1.3/5*.

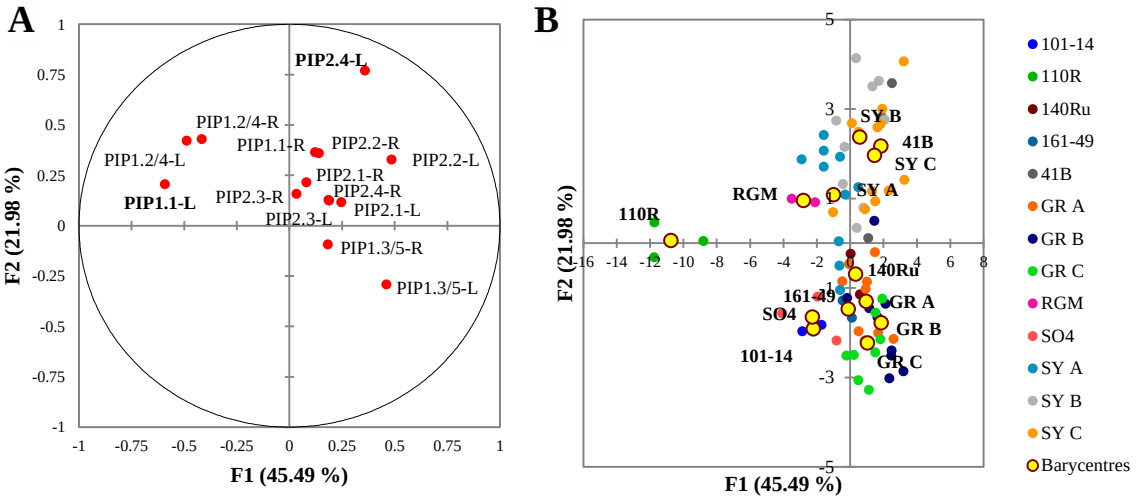


Figure 5.10- Discriminant function analysis on « scion genotype » variable. The analysis was performed on *VviPIPs* transcript abundance data in well-watered condition for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

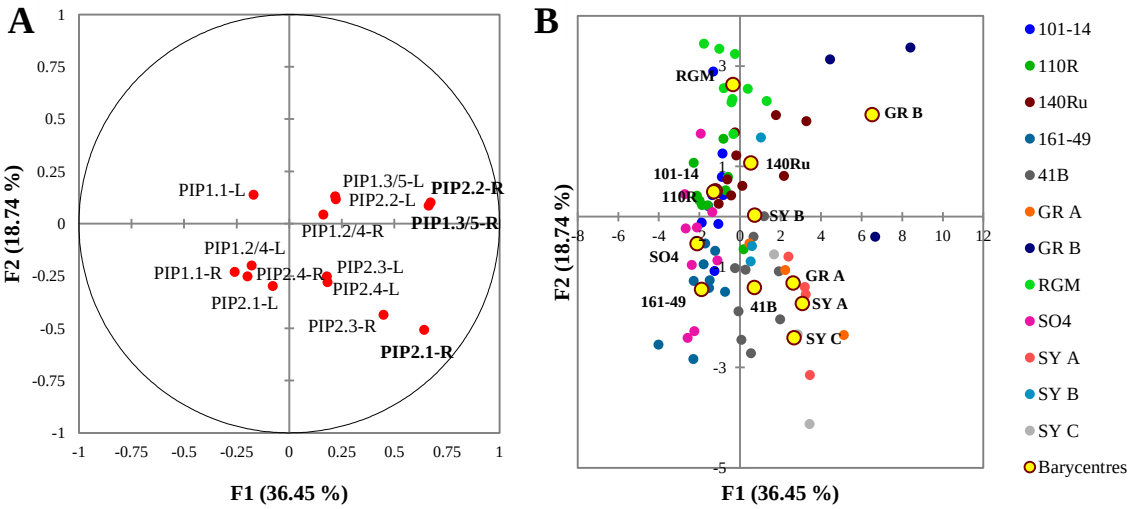


Figure 5.11- Discriminant function analysis on « rootstock genotype » variable. The analysis was performed on *VviPIPs* transcript abundance data in well-watered condition for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated. For SY and GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

III-2.1.2. Analyses factorielles discriminantes

Le niveau des transcrits *VviPIPs* en situation non contrainte a été soumise à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du greffon" (Figure 5.10). Au total 67,5 % de la variabilité est expliquée par les axes F1 et F2 (Figure 5.10A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté négatif par l'expression foliaire de *VviPIP1.1*. L'expression foliaire et racinaire de *VviPIP1.2/4*, et l'expression foliaire de *VviPIP1.3/5* et *VviPIP2.2* contribuent aussi de manière importante à l'explication de l'axe. L'axe F2 est principalement expliqué par l'expression de *VviPIP2.4* au niveau foliaire. Les combinaisons se répartissent en trois groupes majeurs (Figure 5.10B). L'axe F1 discrimine l'homogreffe avec le greffon 110R (côté négatif) des autres combinaisons qui sont par ailleurs peu discriminées entre elles par cet axe. L'axe F2 discrimine l'ensemble des combinaisons avec les greffons SY, 41B et RGM (côté positif), des combinaisons avec les greffons GR, 161-49, SO4, 101-14 et 140Ru.

Le niveau des transcrits *VviPIPs* en situation non contrainte a également été soumis à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Génotype du porte-greffe" (Figure 5.11). Au total 55,2 % de la variance est expliqué par les axes F1 et F2 (Figure 5.11A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par l'expression des gènes *VviPIP1.3/5, VviPIP2.1* et *VviPIP2.2* au niveau racinaire alors que l'axe F2 est principalement expliqué du côté négatif par l'expression racinaire de *VviPIP2.1*. L'axe 1 discrimine légèrement du côté positif les combinaisons avec les porte-greffes SY, GR, 41B et 140Ru des combinaisons avec les autres porte-greffes (Figure 5.11B). L'axe F2 discrimine, du côté positif, les combinaisons avec les porte-greffes RGM, 140Ru (du côté positif), de celles avec les porte-greffes SY, 41B, 161-49 (côté négatif). Les combinaisons avec le porte-greffe GR se situent de part et d'autre de l'axe F2 au cours des expérimentations 1 et 2 respectivement.

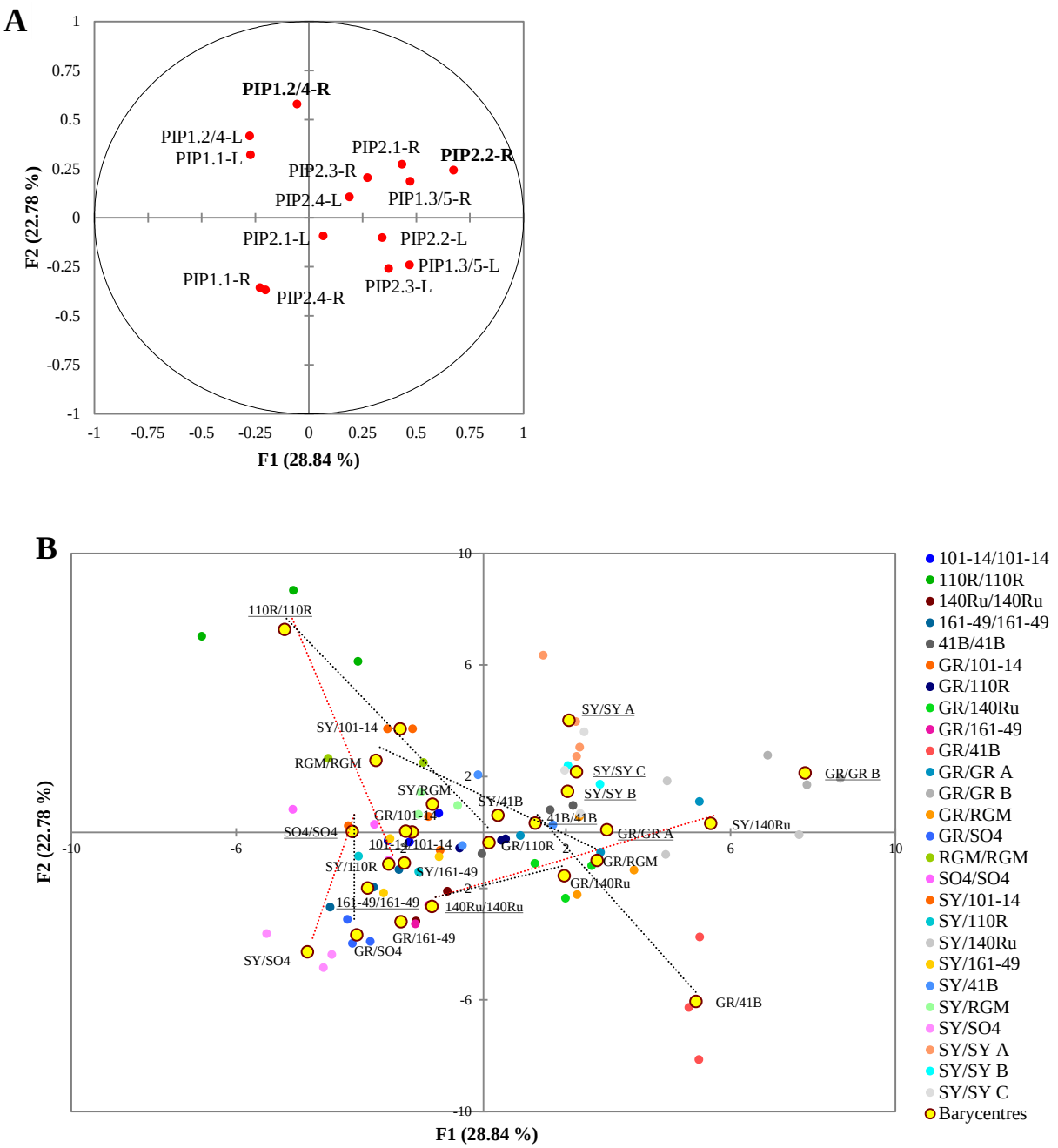


Figure 5.12- Discriminant function analysis on « graft combination » variable. The analysis was performed on *VviPIPs* transcript abundance data in well-watered condition for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yelow point and annotated, homograft are underlined. Black and red dashed line connect respectively GR and SY scion to rootstock homograft. For SY/SY and GR/GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

Ces analyses montrent que la discrimination des greffons est réalisée par l'expression foliaire des aquaporines. Les greffons SY est GR sont bien discriminés et associés respectivement aux greffons 41B et RGM, et aux greffons 101-14, SO4, 161-49 et 140Ru. Le greffon 110R présente un comportement extrême à l'ensemble des greffons étudiés. Au niveau racinaire, la discrimination des porte-greffes est réalisée par l'expression des aquaporines racinaires. Le porte-greffe RGM se discrimine facilement alors que les différences ne sont pas marquées pour les autres génotypes. L'abondance des transcrits *VviPIPs* en situation non contrainte a finalement été soumise à une analyse factorielle discriminante sur la variable "Combinaison greffon/porte-greffe" (Figure 5.12).

Au total 51,6 % de la variance est expliquée par le plan factoriel F1 x F2 (Figure 5.12A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par l'expression racinaire du gène *VviPIP1.2-4* alors que l'axe F2 est principalement expliqué du côté positif par l'expression racinaire du gène *VviPIP2.2*.

La dispersion des individus selon leur combinaison greffon/porte-greffe est présentée en Figure 5.12B. Les génotypes SY et GR en situation d'homogreffe se regroupent pour les trois expérimentations dans la partie positive des axes F1 et F2. La dispersion des autres combinaisons greffon/porte-greffe ne sera pas décrite en détail mais la position relative des hétérogreffes par rapport aux homogreffes permet de différencier certains génotypes. Pour les génotypes SO4, 110R et 140Ru, l'association avec les greffons SY et GR éloigne le positionnement des hétérogreffes de celles des homogreffes dans une direction peu variable selon les greffons (le lien entre homogreffes et hétérogreffes est matérialisé par des lignes brisées). A l'inverse, l'homogreffe et les hétérogreffes avec 161-49 sont regroupées. D'autre part, pour le porte-greffe 101-14, l'hétérogreffe GR/101-14 est très proche de l'homogreffe, alors que l'hétérogreffe SY/101-14 est plus éloignée. Pour les génotypes RGM et 41B, l'inverse est observé, l'hétérogreffe SY/ RGM et SY/41B sont très proches de l'homogreffe alors que les hétérogreffes GR/RGM et GR/41B sont très éloignées.

Cette analyse permet d'observer l'impact du greffon sur l'expression des gènes *VviPIPs*. Pour le génotype 161-49, l'expression des gènes ne semble pas varier selon le greffon, alors que pour d'autres une variation peut être observée. Pour les génotypes RGM, SO4, 110R et 140Ru la réponse est globalement la même quel que soit le greffon, alors que pour les génotypes 101-14 et 41B la réponse varie en fonction du génotype du greffon.

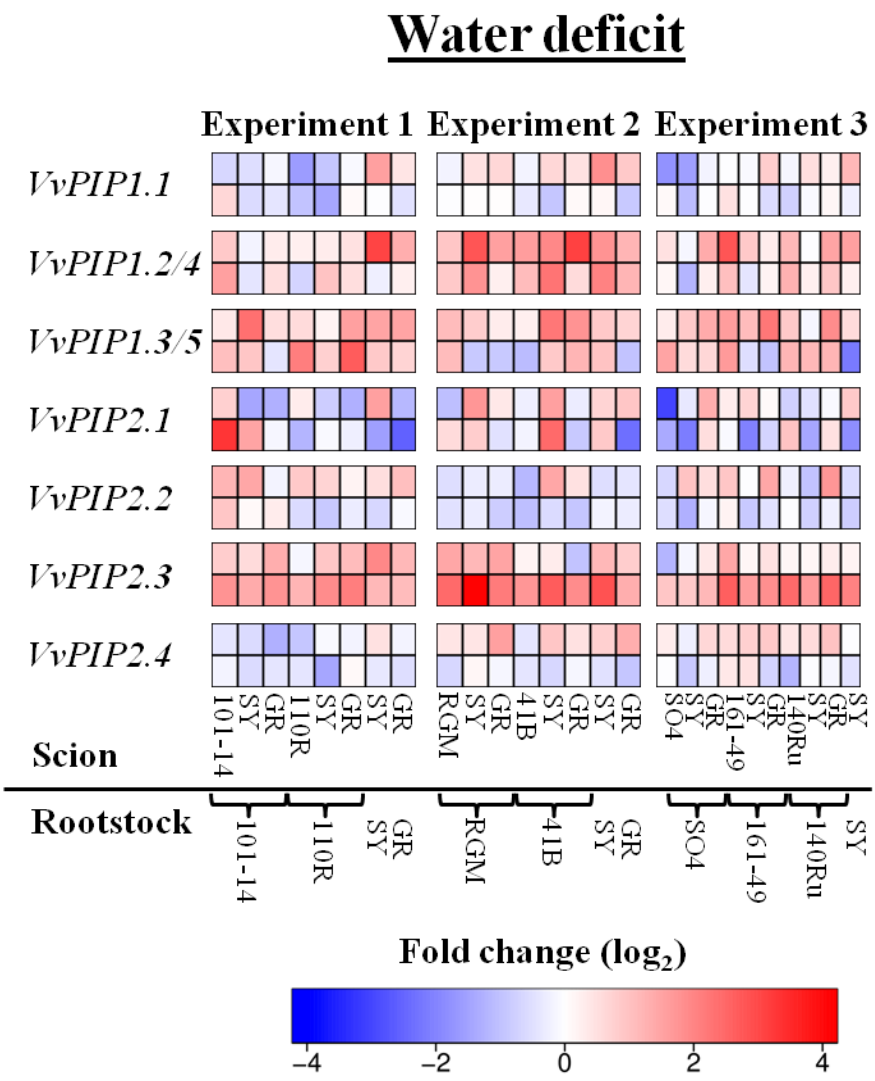


Figure 5.13- Heat maps of the changes in transcript abundance from well-watered to water deficit conditions for leaves and root tips. The blue and red shades indicate the extent of gene repression and induction respectively (n = 3). Blocks of squares show the level of gene expression in the leaves and roots of 23 different combination scion/rootstock for each gene studied.

III-2.2. Situation de déficit hydrique

III-4.2.1. Présentation globale du niveau de transcrits

L'abondance des transcrits *VviPIPs* étudiés en situation de déficit hydrique est présentée sous forme de cartes de chaleur illustrant le niveau d'induction ou de répression par rapport à la situation non contrainte (Figure 5.13). Globalement l'expression des différentes aquaporines étudiées présentent des comportements très variables en fonction des tissus et des combinaisons greffon/porte-greffe. Les résultats de l'analyse de variance effectuée entre les combinaisons, le traitement hydrique et leur interaction est disponible dans les données supplémentaires (Tableau S5.XIV-XVI).

Pour les trois expérimentations, l'expression foliaire de *VviPIP1.2/4* et *VviPIP1.3/5* est significativement induite par le traitement hydrique. Et pour au moins deux des trois expérimentations une induction significative est également retrouvée pour *VviPIP2.3* et *VviPIP2.4* au niveau foliaire. De manière intéressante, l'expression foliaire de *VviPIP1.1* est significativement induite par le traitement hydrique dans l'expérimentation n°2 et significativement réprimée dans l'expérimentation n°1. En situation de déficit hydrique, il y a peu d'effet significatif du facteur combinaison greffon/porte-greffe sur l'abondance des transcrits en situation de déficit hydrique. Cependant l'expression foliaire de *VviPIP1.3/5, VviPIP2.1* et *VviPIP2.1* est plus faible chez les homogreffes des génotypes RGM, 101-14, SO4, 161-49, 41B, 110R et 140Ru en comparaison des hétérogreffes correspondantes, malgré l'absence de significativité de ce résultat.

Au niveau racinaire, l'expression de *VviPIP2.3* et *VviPIP2.4* est significativement modifiée par le déficit hydrique, le premier est induit alors que le second est réprimé. Pour les expérimentations n°1 et n°3, une répression significative est également observée pour les gènes *VviPIP1.1* et *VviPIP2.1*. En situation de déficit hydrique aucune différence significative n'est observée pour l'expression racinaire des gènes *VviPIPs* entre les différentes combinaisons greffon/porte-greffe. Pour les expérimentations n°2 et n°3, quelques différences ponctuelles peuvent être observées. De manière intéressante, l'expression racinaire de *VviPIP2.1* est significativement différente entre les combinaisons avec le porte-greffe 41B. De la même manière, les combinaisons ayant comme porte-greffe RGM présentent des niveaux d'expression racinaire du gène *VviPIP2.3* significativement différentes par rapport aux autres combinaisons.

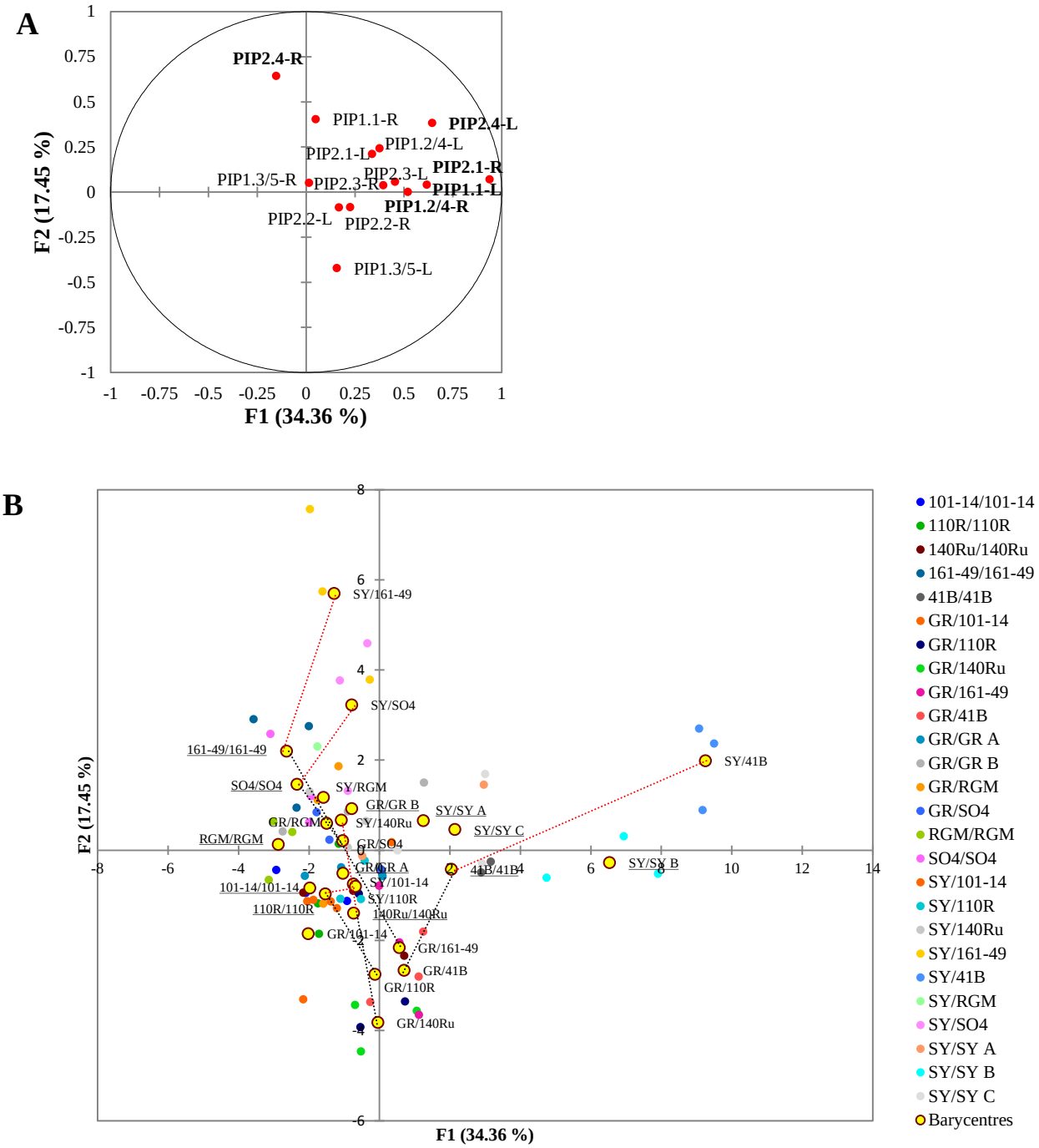


Figure 5.14- Discriminant function analysis on « graft combination » variable. The analysis was performed on *VviPIPs* transcript abundance data in water deficit condition for leaves (-L) and root tips (-R). A: Representation of the contribution of variables to the discriminant functions F1 and F2. The transcript names highly correlated to the discriminant function (R>0.5) are bolded. B: Plot of individual scores for the two discriminant functions F1 and F2. Barycenter for each genotype is identified by a yellow dot and annotated, homograft are underlined. Black and red dashed line connect respectively GR and SY scion to rootstock homograft. For SY/SY and GR/GR, A, B, C were add to make differentiation between experiment 1, 2 and 3.

III-2.2.2. Analyses factorielles discriminantes

L'analyse discriminante sur la variable "Génotype du greffon" ne sera pas présentée car les génotypes sont mal discriminés. L'analyse discriminante sur la variable "Génotype du porte-greffe" ne sera pas présentée non plus car les résultats majeurs sont retrouvés dans l'analyse discriminante sur la variable "Combinaison greffon/porte-greffe" (Figure 5.14).

Au total 51,8 % de la variabilité est représenté par les axes F1 et F2 (Figure 5.14A). L'axe F1 est principalement expliqué du côté positif par l'expression foliaire de *VviPIP1.1* et *VviPIP2.4* et par l'expression racinaire de *VviPIP1.2/4* et de *VviPIP2.1*. L'axe F2 est principalement expliqué du côté positif par l'expression racinaire de *VviPIP2.4*. La dispersion des combinaisons greffon/porte-greffe sur le plan factoriel F1 x F2 est présenté en figure 5.14B. On peut globalement observer que les combinaisons avec SY comme greffon sont distribuées dans la partie du plan factoriel définie par le côté positif des axes F1 et F2. Mais les différentes combinaisons se distribuent le long des axes, c'est à dire que leur positionnement est influencé par un seul des deux axes. Les combinaisons avec GR comme greffon sont peu discriminées par l'axe F1 et se positionnent pour la plupart dans la partie négative de l'axe F2. La plupart des homogreffes, hormis celle avec 41B, se positionnent dans la partie négative de l'axe F1. L'axe F2 discrimine les homogreffes avec 161-49, SO4 (côté positif), de celles avec 110R, 101-14 et 140Ru (côté négatif)

Comme précédemment le positionnement de chaque combinaison greffon/porte-greffe ne sera pas présenté en détail mais la position des hétérogreffes sera décrite par rapport à celles des homogreffes respectives. Pour les génotypes RGM et 101-14, l'association avec le greffon SY ou GR n'influence que très peu le positionnement des individus. Pour les génotypes SO4, 161-49, 41B et 140Ru, la positionnement est influencé par le génotype du greffon. Lorsque le greffon est SY, l'hétérogreffe se positionne en direction positive de l'axe F2. Lorsque le greffon est GR, l'hétérogreffe se positionne en direction négative de l'axe F2. Pour le génotype 110R, la combinaison SY/110R se situe à proximité de l'homogreffe 110R/110R, alors que la combinaison GR/110R est décalée vers la partie négative de l'axe F2.

Cette analyse permet de montrer que la régulation transcriptionnelle des aquaporines étudiées en situation de déficit hydrique peut être influencée ou non par le génotype du greffon pour un génotype de porte-greffe donné. Les génotypes SY et GR influencent la régulation transcriptomique de manière opposée, en agissant principalement sur l'expression racinaire du gène *VviPIP2.4*. L'intensité de la réponse au greffage apparait aussi variable en fonction du porte-greffe.

IV- Discussion

Dans ce chapitre, la régulation transcriptomique des principaux gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA, ainsi que ceux codant des aquaporines de type PIP1 et PIP2, a été étudiée en situation de non contrainte (J7) et de déficit hydrique (J11), au niveau foliaire et racinaire, sur les 23 combinaisons greffon/porte-greffe étudiées. Les objectifs de cette étude sont de caractériser les différences liées aux génotypes au sein des deux tissus et d'étudier la réponse transcriptomique de ces gènes en situation de déficit hydrique. Une discussion plus générale des résultats en lien avec les données physiologiques et métaboliques, ainsi qu'une comparaison avec les observations faites sur bouture sera conduite dans le dernier chapitre « conclusions générales et perspectives ».

IV-1. Effet du déficit hydrique sur la régulation transcriptomique des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA

Le déficit hydrique est le principal facteur de variation du niveau d'expression de l'ensemble des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA, au niveau foliaire et racinaire à l'exception du gène *VviHyd2* et du gène *VviSnRK2.1* au niveau racinaire. Les gènes *VviRCAR5* et *VviRCAR6* sont réprimés alors que les autres gènes sont induits par le déficit hydrique. Les niveaux d'induction ou de répression sont souvent plus marqués dans les racines que dans les feuilles. Les gènes *VviNCED1*, *Vvi PP2C4*, *VviPP2C9* dans tous les organes, et *VviNCED2* dans les racines présentent le niveau d'induction le plus élevé. *VviRCAR6* dans les racines présente le niveau de répression le plus élevé. Ces résultats sont conformes à ceux observés dans la littérature chez la vigne (Boneh et al., 2012a et b) et pour la plupart, aux résultats rapportés pour les boutures au chapitre 2, ce qui prouve que la régulation transcriptionnelle de ces gènes est conservée en situation greffée. On constate que ce sont plutôt les étapes de biosynthèse de l'ABA et les premières étapes de la voie de transduction du signal qui sont le plus affectées, ce qui pourrait être expliqué par la précocité des prélèvements par rapport à l'application de la contrainte (J11) et la faible intensité du stress à cette date ($\psi_{predawn} \approx$ -2.5 MPa cf chapitre 4). Nos résultats confirment aussi l'induction de VviNCED2 principalement dans les racines, comme rapporté par Speirs et al. (2013).

Cependant les résultats obtenus pour l'expression des gènes *VviSnRK2.1* et *VviSnRK2.6* dans les racines sont différents entre cette expérimentation et celle réalisée sur boutures. En effet sur boutures, l'expression du gène *VviSnRK2.1* était induite alors que celle du gène *VviSnRK2.6* n'était pas significativement modifiée par le déficit hydrique alors que nous observons l'effet inverse ici. Plusieurs paramètres peuvent expliquer les différences entre ces deux expérimentations, notamment l'intensité du déficit hydrique ou l'heure du prélèvement.

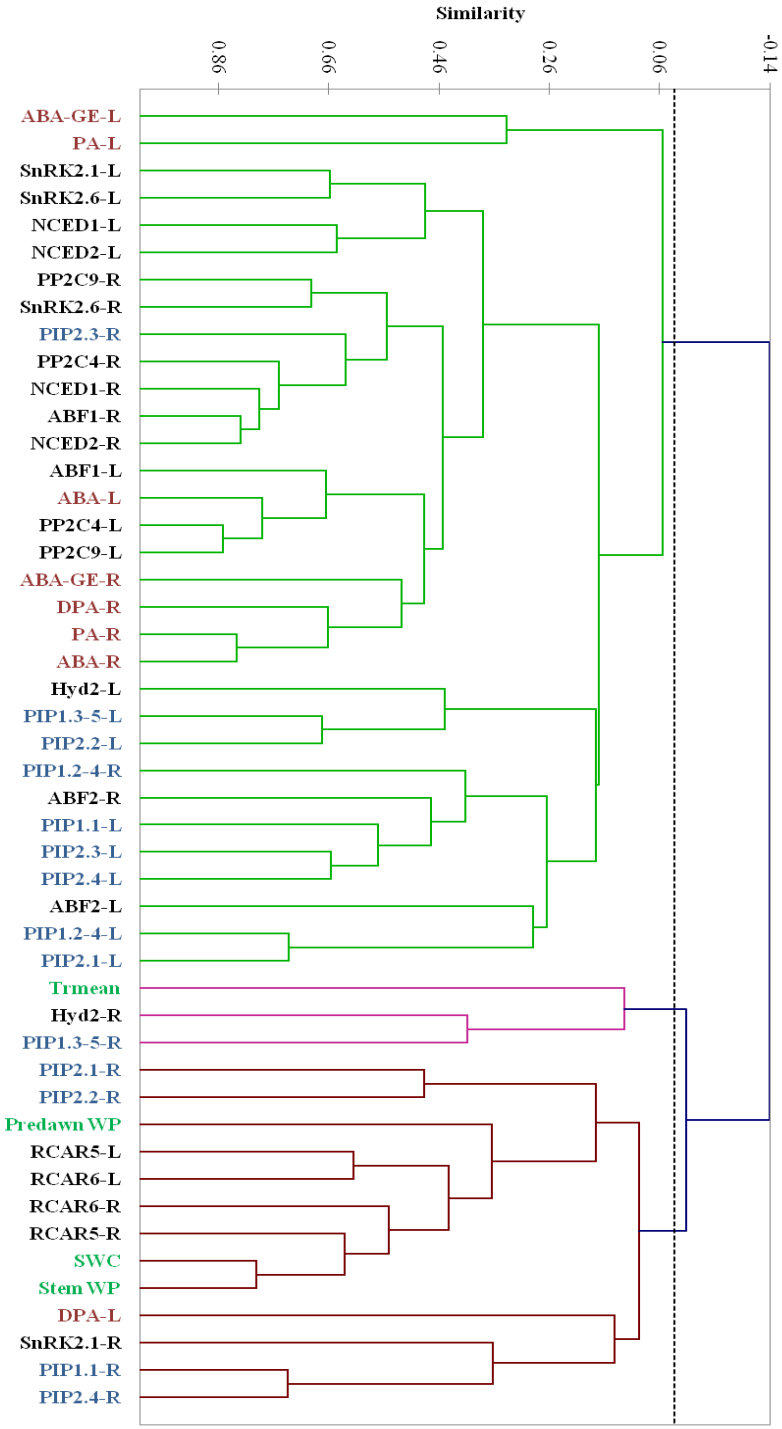


Figure 5.15 : Tree of similarities between physiological (Green), ABA-related metabolits (Red) and aquaporins (Blue) and ABA-related (Black) genes expression variables established from Pearson correlation coefficients (n = 148).

Comme souligné par Seiler et al. (2014), l'intensité et la durée du stress affecte la réponse transcriptomique des gènes liés à la signalisation de l'ABA. Effectivement dans l'expérimentation sur plantes greffées décrite ici, l'intensité du déficit hydrique est plus faible que celle de la contrainte appliquée sur les boutures au chapitre 2 ($-0.5<\psi_{predawn}<-1.2$ MPa). Il est alors envisageable que l'expression des gènes *VviSnRK2.1* et *VviSnRK2.6* répondent tous deux au déficit hydrique, mais soient impliqués respectivement dans une réponse à forte et à faible intensité. Par ailleurs, il a clairement été montré des interactions entre la régulation des rythmes circadiens et la régulation hormonale, notamment celle liée à l'ABA (Robertson et al., 2009). Les membres de la famille SnRK2 sont des serine/threonine kinases impliquées dans la réponse aux stress abiotiques et à l'ABA dont certains seraient régulés par le cycle jour-nuit (Kulik et al., 2011). Dans nos travaux, les prélèvements ont été réalisés en fin de nuit (boutures chapitre 2) et vers le midi solaire (plantes greffées), ce qui pourrait expliquer également les différences observées entre les 2 situations.

IV-2. Coordination racines – feuilles pour la régulation des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA au niveau de la plante greffée

Les différentes analyses discriminantes, l'ACP générale, et l'analyse de similarité des gènes montrent de façon très claire que la régulation des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA au niveau foliaire et racinaire n'est majoritairement pas coordonnée (Figure 5.15). L'ensemble de ces variables au sein d'un même tissu présente de forts niveaux de corrélations, mais les corrélations croisées entre les tissus sont beaucoup plus faibles et correspondent sans doute à la réponse générale au potentiel hydrique de tige. Ces données sont en accord avec l'idée que la biosynthèse foliaire d'ABA foliaire est suffisante (et indépendante du pool racinaire) pour expliquer la concentration dans la sève xylémienne et la réponse stomatique (Soar et al., 2004, Soar et al., 2006, Christman et al., 2007). Il est aussi important de souligner que le niveau d'induction ou de répression au niveau racinaire est généralement plus important qu'au niveau foliaire (surtout pour les gènes en amont de la voie de signalisation). Les corrélations entre l'expression des gènes et les potentiels hydriques de base et de tige sont généralement meilleures au niveau racinaire suggérant un lien plus direct entre l'état hydrique du sol et de la plante et la réponse racinaire. Il faut cependant souligner que l'expression du gène *VviNCED1* dans les feuilles est soumise à des effets porte-greffes, ce qui peut suggérer que l'induction de la biosynthèse d'ABA dans les feuilles en situation de contrainte hydrique est sous le contrôle d'un signal provenant des racines (Borel et al., 2001 ; Perrone et al., 2012).

IV-3. Effet des génotypes sur la régulation transcriptomique des gènes liés au métabolisme et à la signalisation de l'ABA en situation greffée

Les analyses discriminantes réalisées en situation de non contrainte et en situation de déficit hydrique permettent de différencier le comportement de certains génotypes au niveau foliaire et racinaire. Au niveau foliaire, les greffons 101-14, 161-49, 110R et 140Ru sont largement discriminés des autres par l'expression foliaire des gènes VviNCED2, VviPP2C4, VviPP2C9 et VviSnRK2.6 en situation ou non de contrainte hydrique. Au niveau racinaire, ces génotypes sont également discriminés par l'expression racinaire des mêmes gènes à l'exception de VviPP2C4. L'expression racinaire de VviABF2 semble également intervenir dans cette discrimination. Pour les génotypes 110R et 140Ru, ces observations sont conformes à celles faites sur boutures au chapitre 2 où les gènes VviABF2 et VviSnRK2.6 sont respectivement faiblement et fortement exprimés de manière constitutive pour ces génotypes.

Une discrimination des génotypes 101-14 et 161-49 sur le caractère « génotype de greffon » enregistrée sur plante greffée est mise en évidence en situation ou non de contrainte hydrique. Elle n'avait pas été observée sur boutures. Elle est en partie liée aux mêmes critères discriminants que pour les génotypes 110R et 140Ru, c'est-à-dire principalement le niveau de transcrits VviNCED2 et VviSnRK2.6 dans les feuilles. Cette discrimination ne semble cependant pas être associée à l'état hydrique des plants, ni à leur origine génétique, puisque 101-14 est un hybride V. riparia x V. rupestris et 161-49 un hybride V. berlandieri x V. rupestris. Ces génotypes sont également caractérisés par de fortes teneurs en ABA-GE dans les feuilles ou dans les racines (cf chapitre 4). Ces particularités ne sont pas non plus associées au niveau d'adaptation à la sécheresse qui est élevé chez 110R et 140Ru, et plutôt faible chez 161-49 et 101-14. Il serait important de mieux comprendre le rôle de ABA-GE dans la régulation des pools d'ABA pour interpréter ces résultats.

Mis à part ce constat, il est noté que le porte-greffe 41B est discriminé en situation non contrainte par l'expression des gènes *VviPP2C4* et *VviRCAR5* dans les racines et qu'en situation de déficit hydrique, le porte-greffe 140Ru est discriminé par l'expression de *VviPP2C9* et *VviSnRK2.6* dans les racines. Il est également remarquable que les porte-greffes 110R et 101-14 sont discriminés par l'expression du gène *VviNCED1* dans les feuilles (du greffon), suggérant que ces porte-greffes peuvent contrôler au niveau transcriptomique la biosynthèse d'ABA dans les feuilles. Même si ces 2 génotypes ont été étudiés dans la même expérimentation (n°1), on ne retrouve pas cette discrimination pour les porte-greffes SY et GR étudiés en même temps.

IV-4. Effet du déficit hydrique sur la régulation des gènes *VviPIP1s* et *VviPIP2s*

Les analyses de variance montrent l'induction ou la répression globale de certains gènes des familles *VviPIP1s* et *VviPIP2s* au niveau foliaire et racinaire.

Globalement, l'expression des gènes *VviPIP1.1, VviPIP2.2* et *VviPIP2.4* est très importante dans les racines de tous les génotypes, ce qui suggère un rôle majeur dans le transport racinaire de l'eau (Galmès et al. 2007 ; Vandeleur et al., 2009 ; Perrone et al., 2012). Ces résultats confirment ceux obtenus sur boutures (cf chapitre 3), hormis pour *VviPIP2.4* pour lequel une expression importante dans les racines est mise en évidence dans les conditions expérimentales décrites au chapitre 4. Cette dernière observation est en accord avec la littérature (Perrone et al., 2012, Gambetta et al., 2012). Dans ce cas, les prélèvements ont été réalisés à midi solaire, ce qui renforce l'idée de l'importance du moment des prélèvements pour étudier l'expression des aquaporines.

Dans ce travail, le déficit hydrique conduit globalement à la répression de l'expression des gènes *VviPIP1.1*, *VviPIP2.1*, *VviPIP2.2* et *VviPIP2.4* dans les racines. Dans les feuilles, globalement, ces mêmes gènes ne sont pas significativement affectés, sauf pour *VviPIP2.4* qui est induit et *VviPIP1.1* dont la réponse est très génotype-dépendante. L'abondance des transcrits *VviPIP1.2/4* et *VviPIP1.3/5* n'est pas significativement affectée dans les racines, alors qu'elle est significativement augmentée dans les feuilles. Finalement l'abondance des transcrits *VviPIP2.3* augmente significativement dans les racines et les feuilles. Nos résultats confirment la variabilité de réponse transcriptomique en fonction des aquaporines. Comme dans le cas des boutures (chapitre 3), une induction de l'expression des gènes codant les aquaporines racinaires n'est pas mise en évidence, sauf pour *VviPIP2.3*. Les résultats sont différents au niveau des feuilles puisqu'une induction est observée pour 4 gènes alors qu'ils étaient réprimés ou non affectés sur boutures. Comme discuté au chapitre 3, l'intensité de la contrainte hydrique pourrait expliquer ces différents résultats, certaines aquaporines pouvant être induites à faible niveau de contrainte hydrique pour maintenir la conductance hydraulique des tissus, puis réprimées à des niveaux de contrainte plus élevés pour réduire les pertes en eau (Galmès et al., 2007, Maurel et al., 2015).

IV-5. L'effet génotype sur l'expression des gènes *VviPIP1s* et *VviPIP2s*

En situation non contrainte, des différences génotypiques ont été identifiées au niveau foliaire et racinaire au cours de l'analyse transcriptomique des différentes isoformes d'aquaporines. Au niveau foliaire, l'analyse de variance et l'analyse discriminante met en évidence des différences constitutives dans l'expression des gènes *VviPIP1.2/4* et *VviPIP2.4*. Pour ces deux gènes l'expression est plus importante pour le génotype SY que pour le GR en situation homo- ou hétérogreffée quel que soit le porte-greffe. Notre étude est la première sur la Vigne à montrer des différences constitutives d'expression de gène codant pour aquaporines au niveau foliaire entre deux génotypes qui sont par ailleurs caractérisés respectivement comme anisohydrique et isohydrique. Vandeleur et al. (2009) établit quant à elle un lien entre l'expression racinaire de VviPIP1.1 et le caractère iso-anisohydrique de 2 cépages de vigne cultivés en boutures. Pour sa part, Schultz (2003) observe des différences importantes de conductivité hydraulique et de sensibilité à la cavitation au niveau du pétiole des feuilles de cépages iso ou anisohydrique. Finalement Perrone et al. (2012) rapporte une corrélation négative entre le niveau d'expression de VvPIP2.4 dans les racines et la résistance hydraulique de ce même compartiment. L'ensemble de ces résultats contribuent à souligner le rôle de la composante hydraulique et des aquaporines pour la définition du caractère iso/anisohydrique des espèces ou des variétés. Dans notre travail, nous pouvons faire l'hypothèse que ces deux gènes codant des aquaporines de type PIP (ou au moins *VviPIP2*.4) participent au maintien de la composante hydraulique foliaire de la variété anisohydrique. De plus, les aquaporines contribuent également à la réparation des embolies en phase de réhydratation (Tramontini et Lovisolo, 2016), et les variétés anisohydriques présentent de meilleures capacités de récupération (Schultz, 2003, Pou et al., 2012) .

Au niveau racinaire, on observe sur les cartes de chaleur des différences génotypiques marquées pour l'expression des gènes *VviPIP1.3/5* et *VviPIP2.1*.Un faible niveau d'expression est mis en évidence pour le premier gène chez les génotypes « porte-greffe » 110R et 140Ru, et pour le second gène chez très RGM et 101-14, quel que soit le greffon avec lequel ils sont associés. Seule l'étude de Gambetta et al. (2012) offre une possibilité de comparaison pour l'expression racinaire des différentes aquaporines étudiées entre les génotypes 101-14 et 110R. Celle-ci confirme les résultats obtenus pour le gène *VviPIP2.1* alors que dans son étude le gène *VviPIP1.3/5* présente un niveau très faible pour l'ensemble des génotypes étudiés. Les résultats obtenus dans ce chapitre sont identiques à ceux décrits au chapitre 3, ce qui montre que le greffon n'influence pas le caractère constitutif de l'expression racinaire de certains gènes tels que *VviPIP1.3/5* et *VviPIP2.1*.

En situation de contrainte hydrique, il apparaît très difficile de mettre en évidence des différences génotypiques marquées, ce qui nous conduit à faire l'hypothèse d'un rôle majeur de la greffe et de l'interaction greffon-porte-greffe.

IV-6 Rôle de la greffe sur la régulation transcriptomique des aquaporines

En situation de contrainte hydrique, la réponse transcriptomique semble très variable pour un même greffon avec différents porte-greffe et pour un même porte-greffe avec différents greffons. De plus l'analyse discriminante sur les combinaisons greffon/porte-greffe en situation de déficit hydrique montre que la régulation transcriptomique des aquaporines est très variable en situation greffée. Certains porte-greffes semblent affectés par le génotype du greffon alors que d'autres non. Ces résultats semblent indiquer que la greffe en elle-même peut affecter la régulation transcriptomique des différentes aquaporines. Le point de greffe peut représenter un frein majeur au transfert de l'eau dans le tronc, même si sa contribution à la résistance hydraulique de la plante entière reste beaucoup plus faible que celle du système racinaire (Herralde et al., 2006). Des différences entre les combinaisons greffon/porte-greffe liées au porte-greffe sont également signalées (Herralde et al., 2006). Au sein de la gamme de porte-greffes disponibles dans le monde, une large hétérogénéité dans les capacités de greffage a été décrite (Keller, 2010), mais aucune caractérisation systématique des propriétés hydrauliques de l'interface porte-greffe / greffon n'a été conduite chez la vigne à ce jour, en situation ou non de contrainte hydrique. Sur pommier, Bauerle et al. (2011) mettent en évidence des différences de conductance hydraulique au niveau du point de greffe entre des combinaisons greffon-porte-greffe de vigueur variables. Ces auteurs les associent à la réponse des mêmes combinaisons à la contrainte hydrique, notamment en matière de sensibilité au développement des embolies. Cette contrainte hydraulique supplémentaire au niveau du point de greffe pourrait modifier le flux hydrique et la signalisation entre racines et feuilles et expliquer la variabilité des résultats obtenus.

Dans notre étude, nous avons observé des problèmes de reprise au greffage avec le 140Ru qui ne se démarque pas particulièrement des autres génotypes en matière de régulation transcriptomique des aquaporines. Par ailleurs, il ressort de l'analyse factorielle discriminante en situation de contrainte hydrique sur le critère « combinaison greffon-porte-greffe » que les combinaisons avec le greffon SY présentent une plus grande variabilité de réponse en fonction du génotype de porte-greffe que les combinaisons avec le greffon GR. Le cépage Syrah est connu par ailleurs pour ses problèmes de dépérissement lié à des disfonctionnements du cambium au niveau du point de greffe, ces disfonctionnements entrainant des limitations de développement des tissus conducteurs (IFV, 2011). La variabilité de réponse transcriptomique pour les aquaporines en fonction des combinaisons avec le greffon SY pourrait être associée aux particularités de ce cépage. Des études plus précises devraient être conduites à ce sujet.

V- Conclusions

A travers l'étude transcriptomique des gènes impliqués dans le métabolisme et la signalisation de l'ABA, il est apparu que les caractères constitutifs séparant les génotypes 110R et 140Ru déjà mis en évidence au chapitre 2, ont été retrouvés en situation greffée. La présente étude fait également ressortir les génotypes 101-14 et 161-49 qui présentent de manière constitutive une forte expression foliaire des gènes *VviNCED2, VviPP2C4* et *VviPP2C9*. Le rôle de la greffe dans cette discrimination ne peut être vraiment évalué mais les observations réalisées semblent permettre de conclure à un lien avec la parenté des génotypes.

Au niveau des gènes codant des aquaporines de types PIP1 et PIP2, les caractères constitutifs de certains génotypes sont également retrouvés entre la situation greffée et non greffée permettant la discrimination d'une part des génotypes 110R et 140Ru et d'autre part celles des génotypes 101-14 et RGM. De manière intéressante les génotypes SY et GR présentent aussi de manière constitutive des différentielles d'expression foliaire pour le gène *VviPIP2.4*. Ces résultats montrent que les génotypes de porte-greffe sensibles et tolérants au déficit hydrique (Keller, 2010) expriment de manière variable des caractères associés au fonctionnement hydraulique. Des observations analogues peuvent être faites au niveau des greffons dit iso- ou anisohydriques, quel que soit le porte-greffe.

La réponse transcriptomique liée à l'ABA ne semble pas différente entre les plantes greffées ou non. Comme pour les métabolites liées à l'ABA, les corrélations entre l'expression foliaire et racinaire sont beaucoup plus fortes au sein d'un même tissu qu'entre parties racinaire et aérienne (Chapitre 4). De plus, les différences entre génotypes du greffon et du porte-greffe s'expliquent par la régulation locale de l'expression des gènes, indiquant une indépendance de la régulation entre les parties aériennes et racinaires.

La réponse des gènes codant des aquaporines au niveau foliaire et racinaire est fortement affectée par l'interaction greffon-porte-greffe en situation de contrainte hydrique. Le greffon SY exprime tout particulièrement cette variabilité en fonction du porte-greffe. Cette variabilité concerne l'expression d'aquaporines au niveau foliaire, mais aussi au niveau racinaire.

VI- Données supplémentaires

Tableau S5.I- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°1 in well-watered condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Scion, rootstock (Root.) and interaction (Interac.) effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Scion	0.954	0.019	0.832	0.340	0.463	< 0.0001	0.060	0.400	0.005	0.001	< 0.0001
	Root.	0.761	0.049	0.100	0.276	0.044	0.263	0.457	0.537	0.619	0.242	0.002
	Interac.	0.151	0.392	0.298	0.785	0.576	0.035	0.937	0.405	0.354	0.045	0.753
Scion	101-14	0.009 a	0.052 a	0.06 a	0.04 a	0.11 a	0.05 b	0.03 a	0.32 a	1.98 a	0.16 b	0.28 bc
	110R	0.015 a	0.052 a	0.67 a	0.09 a	0.17 a	0.14 a	0.07 a	0.45 a	1.88 a	0.29 ab	0.08 c
	SY	0.009 a	0.040 a	0.21 a	0.31 a	0.17 a	0.05 b	0.02 a	0.50 a	1.33 ab	0.24 b	0.81 a
	GR	0.008 a	0.032 a	0.25 a	0.15 a	0.19 a	0.04 b	0.02 a	0.23 a	0.81 b	0.42 a	0.57 b
Root.	101-14	0.007 a	0.038 a	0.12 b	0.10 a	0.12 a	0.04 b	0.03 a	0.29 a	1.27	0.31 ab	0.43 a
	110R	0.013 a	0.047 a	0.56 a	0.24 a	0.26 a	0.08 a	0.03 a	0.46 a	1.46	0.32 ab	0.61 a
	SY	0.009 a	0.030 a	0.07 b	0.39 a	0.11 a	0.05 ab	0.02 a	0.51 a	1.23	0.20 b	0.68 a
	GR	0.007 a	0.035 a	0.06 b	0.09 a	0.14 a	0.05 b	0.01 a	0.16 a	0.85	0.38 a	0.75 a
Scion	Root.	NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
101-14	101-14	0.009 a	0.052 a	0.06 a	0.04 a	0.11 a	0.05 b	0.03 a	0.32 a	1.98 a	0.16 c	0.28 bc
SY	101-14	0.011 a	0.042 a	0.21 a	0.19 a	0.14 a	0.05 b	0.03 a	0.45 a	1.35 ab	0.35 abc	0.70 ab
GR	101-14	0.001 a	0.020 a	0.08 a	0.08 a	0.10 a	0.01 b	0.03 a	0.11 a	0.48 b	0.42 a	0.32 bc
110R	110R	0.015 a	0.052 a	0.67 a	0.09 a	0.17 a	0.14 a	0.07 a	0.45 a	1.88 a	0.29 abc	0.08 c
SY	110R	0.008 a	0.050 a	0.38 a	0.33 a	0.29 a	0.04 b	0.01 a	0.52 a	1.43 ab	0.20 bc	1.10 a
GR	110R	0.016 a	0.040 a	0.62 a	0.29 a	0.32 a	0.06 b	0.01 a	0.41 a	1.08 ab	0.46 a	0.66 ab
SY	SY	0.009 a	0.030 a	0.07 a	0.39 a	0.11 a	0.05 b	0.02 a	0.51 a	1.23 ab	0.20 bc	0.68 ab
GR	GR	0.007 a	0.035 a	0.06 a	0.09 a	0.14 a	0.05 b	0.01 a	0.16 a	0.85 ab	0.38 ab	0.75 ab

		Root tips										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Scion	0.602	0.127	0.007	0.619	0.017	0.369	0.194	0.017	0.005	0.475	0.792
	Root.	0.002	0.002	0.767	< 0.0001	0.110	0.028	0.080	0.016	0.004	0.003	< 0.0001
	Interac.	0.551	0.346	0.176	0.026	0.021	0.661	0.269	0.033	0.014	0.047	0.340
Scion	101-14	0.004 b	0.027 b	0.05 b	0.22 b	0.12 b	0.02 a	0.01 a	0.04 a	0.43 a	0.07 c	0.17 bc
	110R	0.006 ab	0.057 ab	0.24 ab	0.52 a	0.57 a	0.07 a	0.02 a	0.10 a	0.49 a	0.18 a	0.08 c
	SY	0.008 a	0.058 a	0.27 a	0.59 a	0.38 a	0.04 a	0.03 a	0.10 a	0.50 a	0.15 ab	0.33 a
	GR	0.004 b	0.065 a	0.07 b	0.45 a	0.17 b	0.05 a	0.03 a	0.06 a	0.67 a	0.12 bc	0.30 ab
Root.	101-14	0.004 b	0.039 b	0.15 a	0.28 c	0.17 b	0.02 b	0.02 a	0.08 ab	0.57 ab	0.09 b	0.21 b
	110R	0.004 b	0.057 ab	0.20 a	0.51 b	0.45 a	0.06 a	0.04 a	0.11 a	0.64 a	0.17 a	0.09 c
	SY	0.014 a	0.080 a	0.23 a	0.83 a	0.31 ab	0.05 ab	0.03 a	0.06 ab	0.38 b	0.18 a	0.60 a
	GR	0.006 b	0.079 a	0.06 a	0.58 ab	0.17 b	0.05 ab	0.02 a	0.04 b	0.45 ab	0.11 b	0.56 a
Scion	Root.	NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
101-14	101-14	0.004 b	0.027 b	0.05 b	0.22 c	0.12 c	0.02 a	0.01	0.04 b	0.43 bc	0.07 b	0.17 b
SY	101-14	0.006 ab	0.034 b	0.35 a	0.25 c	0.22 bc	0.01 a	0.01	0.10 ab	0.43 bc	0.08 b	0.20 b
GR	101-14	0.003 b	0.056 ab	0.05 b	0.36 bc	0.18 bc	0.03 a	0.03	0.09 ab	0.84 a	0.12 ab	0.26 b
110R	110R	0.006 ab	0.057 ab	0.24 ab	0.52 bc	0.57 ab	0.07 a	0.02	0.10 ab	0.49 abc	0.18 a	0.08 b
SY	110R	0.004 b	0.053 ab	0.24 ab	0.61 ab	0.62 a	0.04 a	0.05	0.15 a	0.73 ab	0.18 a	0.11 b
GR	110R	0.003 b	0.060 ab	0.11 ab	0.40 bc	0.16 c	0.07 a	0.05	0.06 b	0.72 abc	0.14 ab	0.07 b
SY	SY	0.014 a	0.080 a	0.23 ab	0.83 a	0.31 abc	0.05 a	0.03	0.06 b	0.38 c	0.18 a	0.60 a
GR	GR	0.006 ab	0.079 a	0.06 ab	0.58 ab	0.17 c	0.05 a	0.02	0.04 b	0.45 bc	0.11 ab	0.56 a

Tableau S5.II- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°2 in well-watered condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Scion, rootstock (Root.) and interaction (Interac.) effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Scion	0.955	0.168	0.110	0.216	0.208	0.108	0.736	0.435	0.001	0.947	0.050
	Root.	0.068	0.805	0.663	0.847	0.906	0.450	0.007	0.792	0.892	0.475	0.227
	Interac.	0.723	0.446	0.015	0.210	0.246	0.357	0.725	0.046	0.037	0.291	0.300
Scion	RGM	0.001 a	0.050 a	0.27 a	0.14 a	0.23 a	0.04 ab	0.03 a	0.18 a	1.54 a	0.27 a	0.52 a
	41B	0.000 a	0.044 a	0.10 b	0.23 a	0.06 a	0.07 a	0.02 a	0.23 a	0.64 b	0.21 a	0.32 a
	SY	0.001 a	0.035 a	0.11 b	0.22 a	0.32 a	0.03 ab	0.02 a	0.34 a	0.78 b	0.25 a	0.34 a
	GR	0.001 a	0.033 a	0.12 b	0.21 a	0.13 a	0.02 b	0.03 a	0.22 a	0.60 b	0.23 a	0.28 a
Root.	RGM	0.001 a	0.038 a	0.18 a	0.20 a	0.23 a	0.02 a	0.02 b	0.23 a	1.00 a	0.25 a	0.34 a
	41B	0.000 a	0.038 a	0.09 a	0.21 a	0.14 a	0.04 a	0.02 b	0.29 a	0.66 b	0.21 a	0.30 a
	SY	0.002 a	0.040 a	0.13 a	0.21 a	0.34 a	0.03 a	0.01 b	0.35 a	0.80 ab	0.29 a	0.33 a
	GR	0.002 a	0.031 a	0.13 a	0.22 a	0.16 a	0.02 a	0.07 a	0.19 a	0.53 b	0.26 a	0.42 a
Scion	Root.	NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
RGM	RGM	0.001 a	0.050 a	0.27 a	0.14 a	0.23 a	0.04 a	0.03 ab	0.18 a	1.54 a	0.27 a	0.52 a
SY	RGM	0.000 a	0.029 a	0.06 ab	0.21 a	0.27 a	0.02 a	0.02 ab	0.21 a	0.65 b	0.23 a	0.28 a
GR	RGM	0.001 a	0.034 a	0.20 ab	0.25 a	0.20 a	0.01 a	0.01 b	0.29 a	0.81 b	0.26 a	0.23 a
41B	41B	0.000 a	0.044 a	0.10 ab	0.23 a	0.06 a	0.07 a	0.02 ab	0.23 a	0.64 b	0.21 a	0.32 a
SY	41B	0.001 a	0.038 a	0.14 ab	0.23 a	0.33 a	0.05 a	0.03 ab	0.47 a	0.88 b	0.24 a	0.40 a
GR	41B	0.000 a	0.033 a	0.03 b	0.17 a	0.03 a	0.02 a	0.02 ab	0.18 a	0.45 b	0.19 a	0.19 a
SY	SY	0.002 a	0.040 a	0.13 ab	0.21 a	0.34 a	0.03 a	0.01 b	0.35 a	0.80 b	0.29 a	0.33 a
GR	GR	0.002 a	0.031 a	0.13 ab	0.22 a	0.16 a	0.02 a	0.07 a	0.19 a	0.53 b	0.26 a	0.42 a

		Root tips										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Scion	0.997	0.052	0.804	0.076	0.711	0.194	0.067	0.086	0.456	0.362	0.061
	Root.	0.639	0.980	0.382	0.001	0.016	< 0.0001	0.022	0.031	0.000	0.271	0.966
	Interac.	0.649	0.384	0.789	0.043	0.023	0.519	0.025	0.519	0.087	0.177	0.003
Scion	RGM	0.006 a	0.079 a	0.09 a	0.61 b	0.22 a	0.04 a	0.03 a	0.06 b	0.81 a	0.17 a	0.51 ab
	41B	0.003 a	0.034 b	0.42 a	1.04 ab	0.24 a	0.08 a	0.04 a	0.23 a	1.11 a	0.16 a	0.34 b
	SY	0.005 a	0.043 b	0.41 a	1.43 a	0.37 a	0.06 a	0.05 a	0.12 b	0.91 a	0.21 a	0.63 a
	GR	0.005 a	0.046 b	0.59 a	0.95 ab	0.34 a	0.06 a	0.03 a	0.13 b	0.86 a	0.18 a	0.54 ab
Root.	RGM	0.006 a	0.056 a	0.42 a	0.60 b	0.28 bc	0.03 b	0.02 a	0.10 b	0.84 b	0.17 a	0.55 a
	41B	0.003 a	0.041 a	0.23 a	1.45 a	0.25 c	0.10 a	0.06 a	0.19 a	1.22 a	0.21 a	0.50 a
	SY	0.005 a	0.047 a	0.28 a	1.70 a	0.53 a	0.03 b	0.02 a	0.08 b	0.41 b	0.21 a	0.63 a
	GR	0.005 a	0.045 a	1.26 a	0.97 ab	0.48 ab	0.05 b	0.03 a	0.07 b	0.62 b	0.15 a	0.57 a
Scion	Root.	NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
RGM	RGM	0.006 a	0.079 a	0.09 a	0.61 c	0.22 ab	0.04 c	0.03 ab	0.06 b	0.81 bc	0.17 a	0.51 ab
SY	RGM	0.005 a	0.037 a	0.77 a	0.53 c	0.24 ab	0.02 c	0.02 b	0.12 ab	0.83 abc	0.16 a	0.49 ab
GR	RGM	0.007 a	0.050 a	0.42 a	0.64 c	0.39 ab	0.03 c	0.02 b	0.14 ab	0.90 abc	0.19 a	0.66 ab
41B	41B	0.003 a	0.034 a	0.42 a	1.04 abc	0.24 ab	0.08 abc	0.04 ab	0.23 a	1.11 ab	0.16 a	0.34 b
SY	41B	0.003 a	0.046 a	0.16 a	2.06 a	0.35 ab	0.12 a	0.11 a	0.18 ab	1.50 a	0.27 a	0.78 a
GR	41B	0.003 a	0.042 a	0.10 a	1.24 abc	0.16 b	0.11 ab	0.02 b	0.16 ab	1.06 abc	0.20 a	0.39 b
SY	SY	0.005 a	0.047 a	0.28 a	1.70 ab	0.53 a	0.03 c	0.02 b	0.08 b	0.41 c	0.21 a	0.63 ab
GR	GR	0.005 a	0.045 a	1.26 a	0.97 bc	0.48 ab	0.05 bc	0.03 ab	0.07 b	0.62 bc	0.15 a	0.57 ab

Tableau S5.III- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°3 in well-watered condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Scion, rootstock (Root.) and interaction (Interac.) effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Scion	0.001	0.049	0.107	0.024	0.406	0.001	0.015	0.053	0.0004	0.576	0.086
	Root.	0.757	0.397	0.819	0.662	0.205	0.558	0.739	0.039	0.141	0.775	0.121
	Interac.	0.435	0.528	0.880	0.516	0.042	0.275	0.108	0.228	0.465	0.193	0.885
Scion	SO4	0.002 b	0.041 b	0.15 a	0.08 b	0.10 a	0.04 b	0.01 c	0.12 b	0.64 b	0.31 a	0.26 a
	161-49	0.018 a	0.176 a	0.05 a	0.35 a	0.12 a	0.11 a	0.08 ab	0.51 a	1.82 a	0.21 a	0.64 a
	140Ru	0.012 a	0.169 a	0.04 a	0.17 ab	0.07 a	0.11 a	0.08 a	0.47 ab	1.49 a	0.19 a	0.09 a
	SY	0.003 b	0.063 b	0.13 a	0.13 b	0.09 a	0.04 b	0.03 bc	0.26 ab	0.68 b	0.26 a	0.59 a
	GR	0.003 b	0.077 ab	0.33 a	0.11 b	0.05 a	0.03 b	0.02 c	0.20 b	0.43 b	0.23 a	0.51 a
Root.	SO4	0.002 b	0.041 b	0.16 a	0.09 a	0.08 a	0.04 a	0.02 a	0.16 b	0.53 b	0.28 a	0.39 a
	161-49	0.009 a	0.112 a	0.18 a	0.20 a	0.11 a	0.07 a	0.05 a	0.44 a	1.18 a	0.23 a	0.71 a
	140Ru	0.007 ab	0.117 a	0.19 a	0.16 a	0.07 a	0.06 a	0.05 a	0.26 ab	0.74 ab	0.21 a	0.42 a
	SY	0.002 b	0.058 ab	0.15 a	0.10 a	0.04 a	0.04 a	0.02 a	0.19 ab	0.59 ab	0.26 a	0.36 a
Scion	Root.	NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
SO4	SO4	0.002 b	0.041 a	0.15 a	0.08 b	0.10 a	0.04 ab	0.01 a	0.12 a	0.64 bc	0.31 a	0.26 a
SY	SO4	0.004 b	0.051 a	0.08 a	0.08 b	0.06 a	0.05 ab	0.04 a	0.21 a	0.59 bc	0.31 a	0.57 a
GR	SO4	0.001 b	0.032 a	0.24 a	0.11 ab	0.07 a	0.01 b	0.01 a	0.15 a	0.36 c	0.21 a	0.32 a
161-49	161-49	0.018 a	0.176 a	0.05 a	0.35 a	0.12 a	0.11 a	0.08 a	0.51 a	1.82 a	0.21 a	0.64 a
SY	161-49	0.004 b	0.055 a	0.16 a	0.17 ab	0.19 a	0.06 ab	0.02 a	0.53 a	1.15 abc	0.22 a	0.79 a
GR	161-49	0.003 b	0.105 a	0.35 a	0.09 b	0.03 a	0.04 ab	0.05 a	0.27 a	0.58 bc	0.26 a	0.69 a
140Ru	140Ru	0.012 ab	0.169 a	0.04 a	0.17 ab	0.07 a	0.11 a	0.08 a	0.47 a	1.49 ab	0.19 a	0.09 a
SY	140Ru	0.003 b	0.088 a	0.12 a	0.16 ab	0.07 a	0.03 b	0.04 a	0.13 a	0.38 c	0.22 a	0.65 a
GR	140Ru	0.006 ab	0.095 a	0.40 a	0.15 ab	0.07 a	0.04 ab	0.01 a	0.18 a	0.35 c	0.22 a	0.51 a
SY	SY	0.002 b	0.058 a	0.15 a	0.10 ab	0.04 a	0.04 ab	0.02 a	0.19 a	0.59 bc	0.26 a	0.36 a

		Root tips										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Scion	0.893	0.750	0.430	0.193	0.001	0.800	0.100	0.314	0.072	0.086	< 0.0001
	Root.	0.019	0.114	0.100	0.851	0.039	0.202	0.031	0.513	0.249	0.071	< 0.0001
	Interac.	0.796	0.815	0.903	0.954	0.362	0.537	0.450	0.309	0.322	0.529	0.048
Scion	SO4	0.005 a	0.056 a	0.26 a	0.59 a	0.56 ab	0.06 a	0.10 ab	0.16 a	0.81 a	0.20 a	0.31 bc
	161-49	0.003 a	0.078 a	0.05 a	0.45 a	0.25 b	0.04 a	0.05 ab	0.09 a	0.99 a	0.21 a	0.38 bc
	140Ru	0.007 a	0.138 a	0.04 a	0.54 a	0.29 b	0.06 a	0.16 a	0.10 a	1.22 a	0.26 a	0.10 c
	SY	0.007 a	0.080 a	0.46 a	0.75 a	1.11 a	0.05 a	0.04 b	0.21 a	0.65 a	0.30 a	0.58 a
	GR	0.005 a	0.093 a	0.30 a	0.69 a	0.49 b	0.05 a	0.09 ab	0.19 a	1.12 a	0.25 a	0.40 b
Root.	SO4	0.005 b	0.070 b	0.15 a	0.71 a	0.96 a	0.04 a	0.07 ab	0.20 a	0.77 ab	0.29 a	0.62 a
	161-49	0.004 b	0.071 b	0.56 a	0.61 a	0.47 a	0.05 a	0.04 b	0.18 a	1.03 ab	0.22 a	0.48 a
	140Ru	0.006 b	0.124 a	0.10 a	0.66 a	0.57 a	0.06 a	0.13 a	0.16 a	1.04 a	0.30 a	0.13 b
	SY	0.013 a	0.073 ab	0.71 a	0.71 a	1.00 a	0.06 a	0.04 b	0.13 a	0.48 b	0.24 a	0.62 a
Scion	Root.	NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
SO4	SO4	0.005 a	0.056 a	0.26 a	0.59 a	0.56 ab	0.06 a	0.10 a	0.16 a	0.81 a	0.20 a	0.31 bcd
SY	SO4	0.004 a	0.076 a	0.05 a	0.82 a	1.50 a	0.03 a	0.02 a	0.29 a	0.42 a	0.38 a	0.97 a
GR	SO4	0.005 a	0.079 a	0.13 a	0.73 a	0.81 ab	0.05 a	0.09 a	0.15 a	1.07 a	0.28 a	0.59 b
161-49	161-49	0.003 a	0.078 a	0.05 a	0.45 a	0.25 b	0.04 a	0.05 a	0.09 a	0.99 a	0.21 a	0.38 bcd
SY	161-49	0.005 a	0.065 a	0.90 a	0.73 a	0.77 ab	0.05 a	0.03 a	0.20 a	0.99 a	0.23 a	0.54 b
GR	161-49	0.004 a	0.069 a	0.71 a	0.64 a	0.40 b	0.04 a	0.04 a	0.26 a	1.11 a	0.22 a	0.50 bc
140Ru	140Ru	0.007 a	0.138 a	0.04 a	0.54 a	0.29 b	0.06 a	0.16 a	0.10 a	1.22 a	0.26 a	0.10 d
SY	140Ru	0.005 a	0.104 a	0.19 a	0.73 a	1.18 ab	0.06 a	0.08 a	0.20 a	0.72 a	0.36 a	0.19 cd
GR	140Ru	0.007 a	0.131 a	0.05 a	0.71 a	0.25 b	0.07 a	0.16 a	0.16 a	1.19 a	0.27 a	0.10 d
SY	SY	0.013 a	0.073 a	0.71 a	0.71 a	1.00 ab	0.06 a	0.04 a	0.13 a	0.48 a	0.24 a	0.62 ab

Tableau S5.IV- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in leaves of genotypes combination studied in experiment n°1 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Combination	0.0005	0.0001	0.0299	0.1230	0.1267	0.1243	0.0016	0.2337	< 0.0001	0.0186	< 0.0001
	Treatment	< 0.0001	< 0.0001	0.6087	0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0011	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	0.0004	0.0015	0.6906	0.2392	0.1857	0.3843	0.0126	0.7133	0.0366	0.0886	0.4951
scion/ rootstock	101-14/ 101-14	0.12 a	0.14 bc	0.06 a	0.03 a	0.07 a	0.32 a	0.21 c	0.44 a	3.20 b	0.72 ab	0.57 ab
	SY/101-14	0.13 ab	0.07 abc	0.24 a	0.10 a	0.08 a	0.24 a	0.09 abc	0.47 a	1.34 a	1.63 b	0.96 b
	GR/101-14	0.10 a	0.06 ab	0.07 a	0.04 a	0.06 a	0.19 a	0.13 abc	0.44 a	1.22 a	1.01 ab	0.67 b
	110R/110R	0.16 ab	0.14 bc	0.48 a	0.05 a	0.12 a	0.37 a	0.18 bc	0.86 a	2.93 b	0.70 ab	0.15 a
	SY/110R	0.31 b	0.15 c	0.50 a	0.17 a	0.15 a	0.26 a	0.12 abc	0.83 a	1.59 a	0.65 ab	1.49 c
	GR/110R	0.06 a	0.07 ab	0.64 a	0.14 a	0.18 a	0.16 a	0.04 a	0.47 a	1.41 a	1.41 ab	0.79 b
	SY/SY A	0.05 a	0.10 abc	0.23 a	0.24 a	0.08 a	0.17 a	0.07 ab	0.75 a	1.47 a	0.52 a	0.91 b
	GR/GR A	0.02 a	0.04 a	0.10 a	0.07 a	0.07 a	0.15 a	0.12 abc	0.36 a	1.12 a	0.84 ab	0.98 b
Treatment	Well-watered	0.01 a	0.04 a	0.26 a	0.19 b	0.17 b	0.06 a	0.03 a	0.37 a	1.28 a	0.30 a	0.58 a
	Water deficit	0.23 b	0.16 b	0.31 a	0.02 a	0.03 a	0.42 b	0.22 b	0.80 b	2.29 b	1.58 b	1.07 b
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
Well-watered	101-14/ 101-14	0.009 a	0.05 a	0.06 a	0.04 a	0.11 abc	0.05 a	0.03 abc	0.32 a	1.98 ab	0.16 a	0.28 abc
	SY/101-14	0.011 a	0.04 a	0.21 a	0.19 a	0.14 abc	0.05 a	0.03 abc	0.45 a	1.35 a	0.35 a	0.70 abcde
	GR/101-14	0.001 a	0.02 a	0.08 a	0.08 a	0.10 abc	0.01 a	0.03 ab	0.11 a	0.48 a	0.42 a	0.32 abcd
	110R/110R	0.015 a	0.05 a	0.67 a	0.09 a	0.17 abc	0.14 ab	0.07 abcd	0.45 a	1.88 a	0.29 a	0.08 a
	SY/110R	0.008 a	0.05 a	0.38 a	0.33 a	0.29 bc	0.04 a	0.01 a	0.52 a	1.43 a	0.20 a	1.10 def
	GR/110R	0.016 a	0.04 a	0.62 a	0.29 a	0.32 c	0.06 ab	0.01 a	0.41 a	1.08 a	0.46 a	0.66 abcde
	SY/SY A	0.009 a	0.03 a	0.07 a	0.39 a	0.11 abc	0.05 a	0.02 a	0.51 a	1.23 a	0.20 a	0.68 abcde
	GR/GR A	0.007 a	0.03 a	0.06 a	0.09 a	0.14 abc	0.05 a	0.01 a	0.16 a	0.85 a	0.38 a	0.75 abcde
Water deficit	101-14/ 101-14	0.238 ab	0.23 cd	0.06 a	0.01 a	0.03 a	0.60 c	0.39 f	0.56 a	4.42 c	1.28 abc	0.87 abcde
	SY/101-14	0.248 ab	0.10 abc	0.27 a	0.01 a	0.02 a	0.44 abc	0.15 abcde	0.49 a	1.33 a	2.90 c	1.21 ef
	GR/101-14	0.193 ab	0.11 abc	0.06 a	0.01 a	0.03 a	0.37 abc	0.22 bcdef	0.77 a	1.96 ab	1.60 abc	1.03 cde
	110R/110R	0.315 b	0.23 bcd	0.28 a	0.01 a	0.08 abc	0.60 c	0.30 ef	1.27 a	3.99 bc	1.11 ab	0.23 ab
	SY/110R	0.608 c	0.25 d	0.61 a	0.01 a	0.02 a	0.49 bc	0.24 def	1.14 a	1.76 a	1.10 ab	1.88 f
	GR/110R	0.097 ab	0.10 ab	0.65 a	0.00 a	0.04 ab	0.27 abc	0.07 abcd	0.54 a	1.73 a	2.36 bc	0.93 bcde
	SY/SY A	0.104 ab	0.20 bcd	0.45 a	0.05 a	0.04 ab	0.33 abc	0.14 abcde	1.07 a	1.78 a	0.95 ab	1.20 ef
	GR/GR A	0.026 ab	0.04 a	0.13 a	0.04 a	0.00 a	0.24 abc	0.23 cdef	0.56 a	1.38 a	1.31 abc	1.21 ef

Tableau S5.V- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in leaves of genotypes combination studied in experiment n°2 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Combinaison	0.0306	0.0348	0.7623	0.2118	0.1234	0.2670	0.3497	0.0326	0.0045	0.5061	0.1715
	Treatment	< 0.0001	< 0.0001	0.0339	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0003	0.0153	0.0018	0.0105	< 0.0001
	Interaction	0.0419	0.0262	0.3947	0.8336	0.2754	0.3160	0.6132	0.5187	0.1930	0.4705	0.3491
Scion/ rootstock	RGM/RGM	0.036 a	0.09 ab	0.22 a	0.08 a	0.12 a	0.19 a	0.11 a	0.20 ab	1.69 b	0.71 a	0.83 a
	SY/RGM	0.052 a	0.15 b	0.17 a	0.12 a	0.15 a	0.22 a	0.11 a	0.38 ab	0.91 ab	0.51 a	0.91 a
	GR/RGM	0.003 a	0.06 ab	0.15 a	0.15 a	0.11 a	0.07 a	0.02 a	0.28 ab	0.75 a	0.39 a	0.42 a
	41B/41B	0.014 a	0.08 ab	0.08 a	0.14 a	0.03 a	0.24 a	0.07 a	0.44 ab	1.25 ab	0.41 a	0.67 a
	SY/41B	0.061 a	0.12 ab	0.36 a	0.13 a	0.18 a	0.36 a	0.22 a	0.58 b	1.19 ab	1.34 a	1.37 a
	GR/41B	0.026 a	0.07 ab	0.36 a	0.10 a	0.02 a	0.45 a	0.16 a	0.24 ab	0.88 ab	2.44 a	0.55 a
	SY/SY B	0.067 a	0.08 ab	0.24 a	0.10 a	0.16 a	0.16 a	0.09 a	0.40 ab	0.83 a	0.86 a	0.74 a
	GR/GR B	0.007 a	0.04 a	0.33 a	0.12 a	0.08 a	0.23 a	0.22 a	0.19 a	0.59 a	0.81 a	0.82 a
Treatment	Well-watered	0.001 a	0.04 a	0.13 a	0.21 b	0.20 b	0.03 a	0.03 a	0.26 a	0.79 a	0.24 a	0.34 a
	Water deficit	0.066 b	0.13 b	0.34 b	0.03 a	0.02 a	0.44 b	0.22 b	0.42 b	1.22 b	1.60 b	1.22 b
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
Well-watered	RGM/RGM	0.001 a	0.05 ab	0.27 a	0.14 abc	0.23 a	0.04 a	0.03 a	0.18 a	1.54 ab	0.27 a	0.52 a
	SY/RGM	0.000 a	0.03 a	0.06 a	0.21 c	0.27 a	0.02 a	0.02 a	0.21 a	0.65 ab	0.23 a	0.28 a
	GR/RGM	0.001 a	0.03 a	0.20 a	0.25 c	0.20 a	0.01 a	0.01 a	0.29 a	0.81 ab	0.26 a	0.23 a
	41B/41B	0.000 a	0.04 ab	0.10 a	0.23 c	0.06 a	0.07 a	0.02 a	0.23 a	0.64 ab	0.21 a	0.32 a
	SY/41B	0.001 a	0.04 ab	0.14 a	0.23 c	0.33 a	0.05 a	0.03 a	0.47 a	0.88 ab	0.24 a	0.40 a
	GR/41B	0.000 a	0.03 a	0.03 a	0.17 bc	0.03 a	0.02 a	0.02 a	0.18 a	0.45 a	0.19 a	0.19 a
	SY/SY B	0.002 a	0.04 ab	0.13 a	0.21 c	0.34 a	0.03 a	0.01 a	0.35 a	0.80 ab	0.29 a	0.33 a
	GR/GR B	0.002 a	0.03 a	0.13 a	0.22 c	0.16 a	0.02 a	0.07 a	0.19 a	0.53 ab	0.26 a	0.42 a
Water deficit	RGM/RGM	0.072 ab	0.13 abc	0.17 a	0.01 a	0.02 a	0.35 ab	0.18 a	0.23 a	1.84 b	1.16 a	1.15 ab
	SY/RGM	0.103 ab	0.28 c	0.28 a	0.03 ab	0.03 a	0.42 ab	0.20 a	0.55 a	1.17 ab	0.80 a	1.55 ab
	GR/RGM	0.005 a	0.09 ab	0.09 a	0.05 ab	0.03 a	0.12 ab	0.03 a	0.27 a	0.69 ab	0.51 a	0.60 a
	41B/41B	0.028 ab	0.12 abc	0.07 a	0.05 ab	0.00 a	0.42 ab	0.11 a	0.65 a	1.87 b	0.61 a	1.03 ab
	SY/41B	0.121 b	0.20 bc	0.58 a	0.03 ab	0.04 a	0.66 ab	0.41 a	0.70 a	1.49 ab	2.44 a	2.34 b
	GR/41B	0.051 ab	0.10 ab	0.69 a	0.03 ab	0.01 a	0.88 b	0.30 a	0.29 a	1.31 ab	4.69 a	0.91 ab
	SY/SY B	0.116 b	0.11 ab	0.32 a	0.01 a	0.03 a	0.27 ab	0.15 a	0.44 a	0.85 ab	1.29 a	1.05 ab
	GR/GR B	0.013 ab	0.05 ab	0.52 a	0.02 a	0.01 a	0.44 ab	0.37 a	0.19 a	0.64 ab	1.36 a	1.21 ab

Tableau S5.VI- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in leaves of genotypes combination studied in experiment n°3 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Combinaison	< 0.0001	< 0.0001	0.0027	0.0019	0.1128	< 0.0001	< 0.0001	0.0492	< 0.0001	0.2020	0.0018
	Treatment	< 0.0001	0.0002	0.0947	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0447	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	< 0.0001	0.3868	0.7728	0.1027	0.1205	< 0.0001	< 0.0001	0.4493	0.0037	0.3050	0.4413
Scion/ rootstock	SO4/SO4	0.016 a	0.07 a	0.15 ab	0.05 a	0.07 a	0.25 a	0.09 ab	0.26 a	1.49 ab	0.66 a	0.64 ab
	SY/SO4	0.017 a	0.08 a	0.08 a	0.05 a	0.04 a	0.20 a	0.08 ab	0.25 a	0.91 ab	0.66 a	1.14 b
	GR/SO4	0.004 a	0.05 a	0.26 ab	0.06 a	0.04 a	0.10 a	0.03 a	0.18 a	0.45 a	0.43 a	0.91 ab
	161-49/ 161-49	0.046 a	0.26 c	0.07 a	0.21 b	0.07 a	0.43 b	0.24 b	0.76 a	3.96 c	0.55 a	1.24 b
	SY/161-49	0.018 a	0.08 a	0.27 ab	0.09 ab	0.11 a	0.14 a	0.04 a	0.37 a	0.93 ab	0.54 a	1.12 b
	GR/161-49	0.034 a	0.14 ab	0.58 b	0.05 a	0.02 a	0.20 a	0.08 ab	0.32 a	0.76 ab	0.82 a	1.19 b
	140Ru/140Ru	0.168 b	0.21 bc	0.06 a	0.09 a	0.06 a	0.54 b	0.44 c	1.05 a	2.32 bc	0.56 a	0.22 a
	SY/140Ru	0.028 a	0.09 a	0.13 ab	0.09 a	0.04 a	0.17 a	0.09 ab	0.18 a	0.66 ab	0.47 a	1.35 b
	GR/140Ru	0.031 a	0.10 a	0.54 ab	0.08 a	0.04 a	0.21 a	0.08 ab	0.24 a	0.46 a	0.81 a	0.77 ab
	SY/SY	0.017 a	0.07 a	0.15 ab	0.06 a	0.03 a	0.21 a	0.09 ab	0.42 a	1.25 ab	0.57 a	0.88 ab
Treatment	Well-watered	0.006 a	0.09 a	0.17 a	0.14 b	0.08 b	0.05 a	0.04 a	0.28 a	0.80 a	0.24 a	0.49 a
	Water deficit	0.070 a	0.14 b	0.28 a	0.02 a	0.03 a	0.44 b	0.22 b	0.53 b	1.84 b	0.97 b	1.40 b
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
Well-watered	SO4/SO4	0.002 a	0.04 a	0.15 ab	0.08 a	0.10 ab	0.04 ab	0.01 a	0.12 a	0.64 ab	0.31 ab	0.26 ab
	SY/SO4	0.004 a	0.05 a	0.08 ab	0.08 a	0.06 ab	0.05 ab	0.04 a	0.21 a	0.59 ab	0.31 ab	0.57 abc
	GR/SO4	0.001 a	0.03 a	0.24 ab	0.11 a	0.07 ab	0.01 a	0.01 a	0.15 a	0.36 a	0.21 ab	0.32 ab
	161-49/ 161-49	0.018 a	0.18 abc	0.05 a	0.35 b	0.12 ab	0.11 abc	0.08 a	0.51 ab	1.82 ab	0.21 ab	0.64 abc
	SY/161-49	0.004 a	0.06 a	0.16 ab	0.17 ab	0.19 b	0.06 ab	0.02 a	0.53 ab	1.15 ab	0.22 ab	0.79 abcd
	GR/161-49	0.003 a	0.10 ab	0.35 ab	0.09 a	0.03 a	0.04 ab	0.05 a	0.27 ab	0.58 ab	0.26 ab	0.69 abc
	140Ru/140Ru	0.012 a	0.17 ab	0.04 a	0.17 ab	0.07 ab	0.11 abc	0.08 a	0.47 ab	1.49 ab	0.19 a	0.09 a
	SY/140Ru	0.003 a	0.09 a	0.12 ab	0.16 a	0.07 ab	0.03 ab	0.04 a	0.13 a	0.38 a	0.22 ab	0.65 abc
	GR/140Ru	0.006 a	0.09 ab	0.40 ab	0.15 a	0.07 ab	0.04 ab	0.01 a	0.18 a	0.35 a	0.22 ab	0.51 abc
	SY/SY	0.002 a	0.06 a	0.15 ab	0.10 a	0.04 a	0.04 ab	0.02 a	0.19 a	0.59 ab	0.26 ab	0.36 ab
Water deficit	SO4/SO4	0.030 a	0.09 a	0.15 ab	0.01 a	0.05 a	0.46 d	0.17 ab	0.40 ab	2.33 ab	1.00 abc	1.01 abcd
	SY/SO4	0.030 a	0.12 ab	0.08 ab	0.02 a	0.01 a	0.34 cd	0.12 a	0.30 ab	1.24 ab	1.01 bc	1.71 cd
	GR/SO4	0.008 a	0.07 a	0.27 ab	0.02 a	0.02 a	0.18 abcd	0.06 a	0.22 ab	0.54 ab	0.65 abc	1.50 bcd
	161-49/ 161-49	0.075 a	0.34 c	0.08 ab	0.07 a	0.03 a	0.76 e	0.40 b	1.01 ab	6.09 c	0.90 abc	1.83 cd
	SY/161-49	0.033 a	0.10 ab	0.37 ab	0.02 a	0.02 a	0.23 abcd	0.06 a	0.21 ab	0.71 ab	0.85 abc	1.44 bcd
	GR/161-49	0.064 a	0.17 abc	0.81 b	0.01 a	0.02 a	0.36 cd	0.11 a	0.38 ab	0.93 ab	1.38 c	1.70 cd
	140Ru/140Ru	0.323 b	0.26 bc	0.09 ab	0.01 a	0.05 ab	0.98 e	0.79 c	1.63 b	3.14 b	0.92 abc	0.35 ab
	SY/140Ru	0.052 a	0.09 a	0.13 ab	0.03 a	0.02 a	0.31 bcd	0.14 ab	0.24 ab	0.94 ab	0.72 abc	2.05 d
	GR/140Ru	0.055 a	0.11 ab	0.67 ab	0.00 a	0.01 a	0.38 cd	0.14 ab	0.29 ab	0.57 ab	1.39 c	1.04 abcd
	SY/SY	0.033 a	0.08 a	0.15 ab	0.02 a	0.03 a	0.38 cd	0.16 ab	0.64 ab	1.92 ab	0.88 abc	1.40 abcd

Tableau S5.VII- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in root tips of genotypes combination studied in experiment n°1 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Root tips										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Combinaison	0.1231	0.3073	0.4478	0.0115	0.0015	0.3836	0.2052	0.0882	0.0105	0.0532	< 0.0001
	Treatment	< 0.0001	< 0.0001	0.3157	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.1554	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	0.0774	0.3142	0.4890	0.0036	0.0003	0.4241	0.2368	0.0910	0.3848	0.0982	< 0.0001
scion/ rootstock	101-14/101-14	0.15 a	0.53 a	0.04 a	0.30 ab	0.11 ab	0.19 a	0.22 a	0.08 a	0.66 ab	0.34 a	0.41 ab
	SY/101-14	0.24 a	0.87 a	0.26 a	0.16 a	0.11 abc	0.44 a	0.64 a	0.13 a	1.05 ab	0.62 a	0.62 bc
	GR/101-14	0.27 a	1.02 a	0.04 a	0.21 a	0.09 ab	0.39 a	0.57 a	0.09 a	1.11 ab	0.63 a	0.62 bc
	110R/110R	0.25 a	0.65 a	0.44 a	0.28 ab	0.29 bc	0.37 a	0.20 a	0.07 a	0.71 ab	0.64 a	0.12 a
	SY/110R	0.25 a	1.26 a	0.16 a	0.32 ab	0.32 c	0.50 a	1.03 a	0.13 a	1.23 b	0.57 a	0.16 a
	GR/110R	0.17 a	0.81 a	0.71 a	0.22 a	0.09 ab	0.40 a	0.56 a	0.08 a	1.09 ab	0.70 a	0.19 a
	SY/SY A	0.43 a	0.76 a	0.28 a	0.56 b	0.19 abc	0.46 a	0.60 a	0.09 a	0.61 a	0.85 a	1.43 d
	GR/GR A	0.13 a	0.65 a	0.06 a	0.34 ab	0.09 a	0.46 a	0.43 a	0.05 a	0.82 ab	0.41 a	0.86 c
Treatment	Well-watered	0.01 a	0.06 a	0.17 a	0.49 b	0.30 b	0.04 a	0.03 a	0.08 a	0.55 a	0.14 a	0.27 a
	Water deficit	0.49 b	1.61 b	0.33 a	0.11 a	0.02 a	0.78 b	1.06 b	0.10 a	1.27 b	1.08 b	0.88 b
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
Well-watered	101-14/101-14	0.004 a	0.03 a	0.05 a	0.22 abc	0.12 ab	0.02 a	0.01 a	0.04 a	0.43 ab	0.07 a	0.17 a
	SY/101-14	0.006 a	0.03 a	0.35 a	0.25 abc	0.22 ab	0.01 a	0.01 a	0.10 a	0.43 ab	0.08 a	0.20 a
	GR/101-14	0.003 a	0.06 a	0.05 a	0.36 abc	0.18 ab	0.03 a	0.03 a	0.09 a	0.84 abcd	0.12 a	0.26 a
	110R/110R	0.006 a	0.06 a	0.24 a	0.52 abcd	0.57 cd	0.07 ab	0.02 a	0.10 a	0.49 ab	0.18 a	0.08 a
	SY/110R	0.004 a	0.05 a	0.24 a	0.61 cd	0.62 d	0.04 a	0.05 a	0.15 a	0.73 abc	0.18 a	0.11 a
	GR/110R	0.003 a	0.06 a	0.11 a	0.40 abcd	0.16 ab	0.07 ab	0.05 a	0.06 a	0.72 abc	0.14 a	0.07 a
	SY/SY A	0.014 a	0.08 a	0.23 a	0.83 d	0.31 bc	0.05 a	0.03 a	0.06 a	0.38 a	0.18 a	0.60 ab
	GR/GR A	0.006 a	0.08 a	0.06 a	0.58 bcd	0.17 ab	0.05 ab	0.02 a	0.04 a	0.45 ab	0.11 a	0.56 ab
Water deficit	101-14/101-14	0.300 a	1.03 ab	0.03 a	0.06 abcd	0.01 ab	0.36 abc	0.43 ab	0.11 a	0.89 abcd	0.60 ab	0.64 abc
	SY/101-14	0.471 ab	1.70 b	0.17 a	0.06 a	0.01 ab	0.88 c	1.27 ab	0.16 a	1.66 cd	1.16 bc	1.04 bc
	GR/101-14	0.537 ab	1.99 b	0.03 a	0.07 a	0.00 a	0.75 bc	1.10 ab	0.09 a	1.39 bcd	1.14 bc	0.98 bc
	110R/110R	0.502 ab	1.24 ab	0.64 a	0.03 a	0.01 ab	0.68 abc	0.38 a	0.04 a	1.16 abcd	1.09 bc	0.17 a
	SY/110R	0.487 ab	2.47 b	0.07 a	0.04 a	0.01 ab	0.95 c	2.01 b	0.10 a	1.74 d	0.95 abc	0.20 a
	GR/110R	0.345 a	1.57 ab	1.32 a	0.05 a	0.02 ab	0.73 abc	1.08 ab	0.09 a	1.46 cd	1.25 bc	0.31 a
	SY/SY A	0.991 b	1.67 b	0.34 a	0.19 abc	0.03 ab	1.01 c	1.35 ab	0.13 a	0.92 abcd	1.74 c	2.53 d
	GR/GR A	0.254 a	1.21 ab	0.06 a	0.10 ab	0.01 ab	0.87 c	0.84 ab	0.07 a	0.98 abcd	0.71 ab	1.16 c

Tableau S5.VIII- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in root tips of genotypes combination studied in experiment n°2 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Root tips										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Combinaison	0.0033	0.0174	0.8409	< 0.0001	0.0036	0.1066	0.4029	< 0.0001	0.0001	0.0144	< 0.0001
	Treatment	< 0.0001	< 0.0001	0.1822	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.9044	0.0060	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	0.0069	0.0133	0.4525	< 0.0001	0.0038	0.1786	0.4491	0.0112	0.4886	0.0294	0.0005
Scion/ rootstock	RGM/RGM	0.07 a	0.27 a	0.05 a	0.37 ab	0.13 ab	0.22 a	0.27 a	0.08 a	0.98 ab	0.37 a	0.98 a
	SY/RGM	0.45 ab	1.18 b	0.43 a	0.31 a	0.12 ab	0.51 a	0.42 a	0.10 ab	1.01 ab	0.98 ab	1.53 a
	GR/RGM	0.09 a	0.29 a	0.28 a	0.38 ab	0.21 ab	0.20 a	0.20 a	0.11 ab	0.94 ab	0.51 a	1.35 a
	41B/41B	0.19 ab	0.48 ab	0.23 a	0.59 ab	0.12 ab	0.65 a	0.67 a	0.18 bc	1.17 b	0.57 ab	0.79 a
	SY/41B	0.17 a	0.46 ab	0.19 a	1.09 c	0.18 ab	0.59 a	0.50 a	0.17 bc	1.43 b	0.71 ab	1.06 a
	GR/41B	0.33 ab	0.56 ab	0.44 a	0.68 abc	0.08 a	0.89 a	0.44 a	0.21 c	1.27 b	1.05 ab	1.40 a
	SY/SY B	0.60 b	0.71 ab	0.16 a	0.84 bc	0.24 b	0.77 a	0.42 a	0.11 ab	0.52 a	1.30 b	2.57 b
	GR/GR B	0.12 a	0.58 ab	0.65 a	0.56 ab	0.25 b	0.64 a	0.73 a	0.07 a	0.90 ab	0.67 ab	1.66 ab
Treatment	Well-watered	0.00 a	0.05 a	0.44 a	1.10 b	0.33 b	0.06 a	0.04 a	0.13 a	0.91 a	0.09 a	0.55 a
	Water deficit	0.50 b	1.07 b	0.17 a	0.13 a	0.02 a	1.05 b	0.86 b	0.13 a	1.12 b	0.08 b	2.30 b
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
Well-watered	RGM/RGM	0.01 a	0.08 ab	0.09 a	0.61 ab	0.22 ab	0.04 a	0.03 a	0.06 a	0.81 abc	0.17 a	0.51 ab
	SY/RGM	0.01 a	0.04 a	0.77 a	0.53 ab	0.24 abc	0.02 a	0.02 a	0.12 ab	0.83 abc	0.16 a	0.49 ab
	GR/RGM	0.01 a	0.05 a	0.42 a	0.64 ab	0.39 bcd	0.03 a	0.02 a	0.14 abc	0.90 abc	0.19 a	0.66 ab
	41B/41B	0.00 a	0.03 a	0.42 a	1.04 bc	0.24 abc	0.08 a	0.04 a	0.23 bc	1.11 abc	0.16 a	0.34 a
	SY/41B	0.00 a	0.05 a	0.16 a	2.06 d	0.35 bcd	0.12 a	0.11 a	0.18 abc	1.50 c	0.27 a	0.78 ab
	GR/41B	0.00 a	0.04 a	0.10 a	1.24 bc	0.16 ab	0.11 a	0.02 a	0.16 abc	1.06 abc	0.20 a	0.39 a
	SY/SY B	0.01 a	0.05 a	0.28 a	1.70 cd	0.53 d	0.03 a	0.02 a	0.08 a	0.41 a	0.21 a	0.63 ab
	GR/GR B	0.01 a	0.05 a	1.26 a	0.97 bc	0.48 cd	0.05 a	0.03 a	0.07 a	0.62 ab	0.15 a	0.57 ab
Water deficit	RGM/RGM	0.13 a	0.46 ab	0.02 a	0.13 a	0.04 a	0.39 abc	0.52 ab	0.10 ab	1.15 abc	0.57 ab	1.46 abc
	SY/RGM	0.89 bc	2.32 c	0.09 a	0.08 a	0.01 a	1.00 abc	0.82 ab	0.09 a	1.18 abc	1.80 bcd	2.57 cd
	GR/RGM	0.18 ab	0.52 ab	0.14 a	0.12 a	0.03 a	0.37 ab	0.39 ab	0.09 a	0.98 abc	0.83 abc	2.04 bc
	41B/41B	0.37 ab	0.93 ab	0.03 a	0.14 a	0.00 a	1.23 abc	1.30 ab	0.13 abc	1.23 abc	0.99 abcd	1.25 abc
	SY/41B	0.33 ab	0.88 ab	0.21 a	0.11 a	0.01 a	1.07 abc	0.89 ab	0.16 abc	1.35 bc	1.15 abcd	1.34 abc
	GR/41B	0.66 abc	1.07 ab	0.77 a	0.13 a	0.01 a	1.67 c	0.87 ab	0.26 c	1.49 c	1.90 cd	2.41 c
	SY/SY B	1.05 c	1.20 bc	0.07 a	0.19 a	0.03 a	1.33 bc	0.73 ab	0.14 abc	0.61 ab	2.11 d	4.03 d
	GR/GR B	0.24 ab	1.10 abc	0.05 a	0.15 a	0.01 a	1.23 abc	1.43 b	0.07 a	1.17 abc	1.20 abcd	2.75 cd

Tableau S5.IX- The transcript abundance of 11 ABA-related genes in root tips of genotypes combination studied in experiment n°3 in well-watered and water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene. Combination, treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Root tips										
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
	Combinaison	0.0008	0.0001	0.4369	0.1957	< 0.0001	0.1084	0.0001	0.3347	0.0005	0.0442	0.0002
	Treatment	< 0.0001	< 0.0001	0.9772	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.3491	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Interaction	0.0009	0.0003	0.3741	0.5193	0.0003	0.1289	0.0003	0.6456	0.4299	0.0812	0.2266
Scion/ rootstock	SO4/SO4	0.113 a	0.47 a	0.88 a	0.34 a	0.30 ab	0.41 a	0.83 ab	0.20 a	1.36 abc	0.98 a	0.81 ab
	SY/SO4	0.160 a	0.59 ab	0.12 a	0.44 a	0.77 c	0.35 a	0.41 a	0.29 a	0.75 ab	1.81 a	1.99 c
	GR/SO4	0.056 a	0.28 a	0.14 a	0.42 a	0.44 abc	0.28 a	0.71 ab	0.20 a	1.23 abc	0.74 a	1.18 abc
	161-49/161-49	0.177 a	1.05 abc	0.12 a	0.27 a	0.13 a	0.49 a	1.23 abc	0.10 a	1.47 bc	1.14 a	0.90 abc
	SY/161-49	0.064 a	0.52 a	0.57 a	0.44 a	0.40 abc	0.35 a	1.07 ab	0.19 a	1.70 c	0.77 a	0.83 ab
	GR/161-49	0.196 a	1.10 abc	0.44 a	0.37 a	0.21 ab	0.39 a	1.34 abc	0.22 a	1.38 abc	1.08 a	1.14 abc
	140Ru/140Ru	0.674 b	1.80 c	0.06 a	0.29 a	0.15 a	0.74 a	3.12 c	0.22 a	1.71 c	2.02 a	0.28 a
	SY/140Ru	0.166 a	0.81 abc	0.30 a	0.42 a	0.61 bc	0.36 a	0.83 ab	0.19 a	0.98 abc	1.46 a	0.54 ab
	GR/140Ru	0.224 a	1.63 bc	0.08 a	0.38 a	0.13 a	0.51 a	2.56 bc	0.16 a	1.54 bc	1.17 a	0.21 a
	SY/SY	0.215 a	0.61 ab	0.39 a	0.49 a	0.51 abc	0.30 a	0.34 a	0.12 a	0.60 a	0.75 a	1.45 bc
Treatment	Well-watered	0.01 a	0.09 a	0.31 a	0.67 b	0.70 b	0.05 a	0.08 a	0.18 a	0.90 a	0.26 a	0.43 a
	Water deficit	0.40 b	1.69 b	0.31 a	0.10 a	0.03 a	0.79 b	2.41 b	0.21 a	1.65 b	2.12 b	1.43 b
		NCED1	NCED2	Hyd2	RCAR5	RCAR6	PP2C4	PP2C9	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2
Well-watered	SO4/SO4	0.005 a	0.06 a	0.26 a	0.59 cde	0.56 abcde	0.06 a	0.10 a	0.16 a	0.81 ab	0.20 a	0.31 a
	SY/SO4	0.004 a	0.08 a	0.05 a	0.82 e	1.50 f	0.03 a	0.02 a	0.29 a	0.42 a	0.38 ab	0.97 ab
	GR/SO4	0.005 a	0.08 a	0.13 a	0.73 e	0.81 cdef	0.05 a	0.09 a	0.15 a	1.07 abcd	0.28 a	0.59 ab
	161-49/161-49	0.003 a	0.08 a	0.05 a	0.45 abcde	0.25 abc	0.04 a	0.05 a	0.09 a	0.99 abc	0.21 a	0.38 a
	SY/161-49	0.005 a	0.07 a	0.90 a	0.73 e	0.77 bcdef	0.05 a	0.03 a	0.20 a	0.99 abc	0.23 a	0.54 ab
	GR/161-49	0.004 a	0.07 a	0.71 a	0.64 de	0.40 abcd	0.04 a	0.04 a	0.26 a	1.11 abcd	0.22 a	0.50 ab
	140Ru/140Ru	0.007 a	0.14 a	0.04 a	0.54 bcde	0.29 abcd	0.06 a	0.16 a	0.10 a	1.22 abcd	0.26 a	0.10 a
	SY/140Ru	0.005 a	0.10 a	0.19 a	0.73 e	1.18 ef	0.06 a	0.08 a	0.20 a	0.72 ab	0.36 ab	0.19 a
	GR/140Ru	0.007 a	0.13 a	0.05 a	0.71 de	0.25 abc	0.07 a	0.16 a	0.16 a	1.19 abcd	0.27 a	0.10 a
	SY/SY	0.013 a	0.07 a	0.71 a	0.71 de	1.00 def	0.06 a	0.04 a	0.13 a	0.48 a	0.24 a	0.62 ab
Water deficit	SO4/SO4	0.222 a	0.88 ab	1.49 a	0.08 a	0.04 a	0.76 abc	1.57 a	0.23 a	1.91 bcd	1.77 abcd	1.31 abc
	SY/SO4	0.316 a	1.11 ab	0.19 a	0.06 a	0.05 ab	0.68 abc	0.79 a	0.29 a	1.08 abcd	3.24 cd	3.01 c
	GR/SO4	0.108 a	0.49 ab	0.15 a	0.10 ab	0.08 ab	0.52 ab	1.33 a	0.25 a	1.38 abcd	1.19 abc	1.78 abc
	161-49/161-49	0.351 a	2.02 bcd	0.18 a	0.08 a	0.01 a	0.95 bc	2.41 ab	0.11 a	1.95 bcd	2.07 abcd	1.41 abc
	SY/161-49	0.122 a	0.98 ab	0.23 a	0.16 abc	0.02 a	0.65 abc	2.12 ab	0.18 a	2.41 d	1.31 abc	1.12 ab
	GR/161-49	0.388 a	2.13 bcd	0.18 a	0.09 a	0.02 a	0.73 abc	2.65 ab	0.19 a	1.65 abcd	1.95 abcd	1.77 abc
	140Ru/140Ru	1.341 b	3.47 d	0.07 a	0.04 a	0.01 a	1.42 c	6.09 c	0.34 a	2.20 cd	3.78 d	0.46 ab
	SY/140Ru	0.327 a	1.51 abc	0.41 a	0.10 ab	0.05 ab	0.65 abc	1.57 a	0.19 a	1.25 abcd	2.56 bcd	0.88 ab
	GR/140Ru	0.441 a	3.13 cd	0.10 a	0.05 a	0.01 a	0.96 bc	4.97 bc	0.16 a	1.90 bcd	2.08 abcd	0.31 a
	SY/SY	0.418 a	1.15 ab	0.06 a	0.27 abcd	0.02 a	0.55 ab	0.64 a	0.12 a	0.72 ab	1.26 abc	2.27 bc

Tableau S5.X- Pearson correlation matrix of all ABA-related genes transcript abundance in well-watered and water deficit treatment, for root tips and leaves for all genotypes. Significant correlation values are shown in bold and red highlighted when upper than 0.6.

		Root tips											Leaves										
		ABF1	ABF2	Hyd2	NCED1	NCED2	PP2C4	PP2C9	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6	ABF1	ABF2	Hyd2	NCED1	NCED2	PP2C4	PP2C9	RCAR5	RCAR6	SnRK2.1	SnRK2.6
Root tips	ABF1	1.00	0.62	0.03	0.76	0.79	0.75	0.70	-0.50	-0.41	0.44	0.54	0.41	0.36	0.20	0.31	0.40	0.62	0.50	-0.45	-0.36	0.34	0.27
	ABF2	0.62	1.00	-0.05	0.55	0.36	0.60	0.19	-0.30	-0.31	0.24	0.13	0.35	0.37	0.15	0.01	0.16	0.35	0.23	-0.33	-0.30	0.06	0.01
	Hyd2	0.03	-0.05	1.00	0.03	-0.03	0.00	-0.06	-0.03	0.12	0.23	0.16	0.02	-0.03	0.16	0.01	0.01	0.04	-0.03	0.04	0.07	0.09	0.16
	NCED1	0.76	0.55	0.03	1.00	0.81	0.77	0.59	-0.46	-0.40	0.26	0.39	0.31	0.27	0.16	0.49	0.49	0.59	0.48	-0.41	-0.30	0.53	0.33
	NCED2	0.79	0.36	-0.03	0.81	1.00	0.73	0.80	-0.54	-0.46	0.18	0.60	0.33	0.37	0.23	0.54	0.54	0.61	0.53	-0.47	-0.37	0.44	0.34
	PP2C4	0.75	0.60	0.00	0.77	0.73	1.00	0.66	-0.54	-0.49	0.26	0.56	0.54	0.36	0.32	0.39	0.37	0.68	0.53	-0.49	-0.41	0.39	0.28
	PP2C9	0.70	0.19	-0.06	0.59	0.80	0.66	1.00	-0.42	-0.36	0.38	0.70	0.23	0.24	0.23	0.32	0.34	0.51	0.49	-0.37	-0.29	0.42	0.26
	RCAR5	-0.50	-0.30	-0.03	-0.46	-0.54	-0.54	-0.42	1.00	0.50	0.02	-0.28	-0.33	-0.44	-0.19	-0.34	-0.40	-0.48	-0.40	0.50	0.48	-0.24	-0.32
	RCAR6	-0.41	-0.31	0.12	-0.40	-0.46	-0.49	-0.36	0.50	1.00	0.20	-0.38	-0.29	-0.35	-0.10	-0.29	-0.30	-0.43	-0.34	0.30	0.24	-0.22	-0.28
	SnRK2.1	0.44	0.24	0.23	0.26	0.18	0.26	0.38	0.02	0.20	1.00	0.43	0.11	0.07	0.13	-0.02	0.04	0.20	0.09	-0.09	-0.14	0.21	-0.03
	SnRK2.6	0.54	0.13	0.16	0.39	0.60	0.56	0.70	-0.28	-0.38	0.43	1.00	0.27	0.25	0.25	0.31	0.36	0.46	0.35	-0.30	-0.25	0.30	0.29
Leaves	ABF1	0.41	0.35	0.02	0.31	0.33	0.54	0.23	-0.33	-0.29	0.11	0.27	1.00	0.27	0.43	0.29	0.14	0.72	0.51	-0.32	-0.26	0.08	0.12
	ABF2	0.36	0.37	-0.03	0.27	0.37	0.36	0.24	-0.44	-0.35	0.07	0.25	0.27	1.00	0.18	0.30	0.42	0.44	0.35	-0.32	-0.31	0.11	0.15
	Hyd2	0.20	0.15	0.16	0.16	0.23	0.32	0.23	-0.19	-0.10	0.13	0.25	0.43	0.18	1.00	0.07	0.04	0.23	0.10	-0.04	0.05	0.17	-0.02
	NCED1	0.31	0.01	0.01	0.49	0.54	0.39	0.32	-0.34	-0.29	-0.02	0.31	0.29	0.30	0.07	1.00	0.61	0.57	0.51	-0.32	-0.23	0.39	0.38
	NCED2	0.40	0.16	0.01	0.49	0.54	0.37	0.34	-0.40	-0.30	0.04	0.36	0.14	0.42	0.04	0.61	1.00	0.61	0.53	-0.31	-0.32	0.41	0.57
	PP2C4	0.62	0.35	0.04	0.59	0.61	0.68	0.51	-0.48	-0.43	0.20	0.46	0.72	0.44	0.23	0.57	0.61	1.00	0.85	-0.43	-0.37	0.43	0.54
	PP2C9	0.50	0.23	-0.03	0.48	0.53	0.53	0.49	-0.40	-0.34	0.09	0.35	0.51	0.35	0.10	0.51	0.53	0.85	1.00	-0.35	-0.31	0.36	0.49
	RCAR5	-0.45	-0.33	0.04	-0.41	-0.47	-0.49	-0.37	0.50	0.30	-0.09	-0.30	-0.32	-0.32	-0.04	-0.32	-0.31	-0.43	-0.35	1.00	0.62	-0.02	-0.10
	RCAR6	-0.36	-0.30	0.07	-0.30	-0.37	-0.41	-0.29	0.48	0.24	-0.14	-0.25	-0.26	-0.31	0.05	-0.23	-0.32	-0.37	-0.31	0.62	1.00	0.00	-0.05
	SnRK2.1	0.34	0.06	0.09	0.53	0.44	0.39	0.42	-0.24	-0.22	0.21	0.30	0.08	0.11	0.17	0.39	0.41	0.43	0.36	-0.02	0.00	1.00	0.64
	SnRK2.6	0.27	0.01	0.16	0.33	0.34	0.28	0.26	-0.32	-0.28	-0.03	0.29	0.12	0.15	-0.02	0.38	0.57	0.54	0.49	-0.10	-0.05	0.64	1.00

Tableau S5.X11- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°1 in well-watered condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Scion, rootstock and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Scion	< 0.0001	< 0.0001	0.001	0.073	0.032	0.009	< 0.0001
	Rootstock	0.328	0.376	0.951	0.636	0.544	0.541	< 0.0001
	Interaction	0.808	0.032	0.276	0.064	0.733	0.013	0.0002
Scion	101-14	0.003 b	0.241 c	0.036 b	0.012 b	0.028 a	0.193 ab	0.004 c
	110R	0.017 a	1.437 a	0.007 b	0.061 ab	0.010 a	0.273 a	0.007 c
	SY	0.004 b	0.718 b	0.159 b	0.334 a	0.094 a	0.173 b	0.025 a
	GR	0.003 b	0.173 c	0.315 a	0.225 ab	0.102 a	0.136 b	0.018 b
Rootstock	101-14	0.004 b	0.406 b	0.177 a	0.166 a	0.088 a	0.184 a	0.022 a
	110R	0.008 a	0.747 a	0.167 a	0.224 a	0.065 a	0.182 a	0.013 b
	SY	0.002 b	0.796 a	0.154 a	0.392 a	0.096 a	0.161 a	0.022 a
	GR	0.002 b	0.072 b	0.287 a	0.169 a	0.070 a	0.136 a	0.014 ab
Scion	Rootstock	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
101-14	101-14	0.003 b	0.241 c	0.036 b	0.012 a	0.028 a	0.193 ab	0.004 d
SY	101-14	0.006 b	0.833 b	0.128 ab	0.359 a	0.100 a	0.243 ab	0.040 a
GR	101-14	0.004 b	0.145 c	0.365 a	0.126 a	0.135 a	0.115 b	0.021 b
110R	110R	0.017 a	1.437 a	0.007 b	0.061 a	0.010 a	0.273 a	0.007 cd
SY	110R	0.005 b	0.500 bc	0.199 ab	0.231 a	0.086 a	0.117 b	0.014 bcd
GR	110R	0.003 b	0.303 c	0.295 ab	0.380 a	0.100 a	0.157 ab	0.018 bc
SY	SY	0.002 b	0.796 b	0.154 ab	0.392 a	0.096 a	0.161 ab	0.022 b
GR	GR	0.002 b	0.072 c	0.287 ab	0.169 a	0.070 a	0.136 ab	0.014 bcd

		Root tips						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Scion	0.001	0.003	0.981	0.856	0.824	0.466	0.558
	Rootstock	0.003	0.006	< 0.0001	0.001	0.001	0.0003	0.560
	Interaction	0.008	0.200	0.992	0.788	0.968	0.506	0.058
Scion	101-14	0.431 b	0.075 b	0.015 a	0.002 a	0.308 a	0.213 b	0.887 a
	110R	1.129 a	0.254 a	0.006 a	0.091 a	0.737 a	0.378 ab	1.349 a
	SY	1.013 a	0.199 a	0.061 a	0.119 a	0.738 a	0.506 a	1.336 a
	GR	0.638 b	0.122 b	0.106 a	0.093 a	0.628 a	0.374 ab	1.211 a
Rootstock	101-14	0.659 b	0.137 b	0.025 c	0.003 c	0.349 c	0.298 b	1.072 a
	110R	1.104 a	0.169 b	0.004 c	0.054 bc	0.637 bc	0.314 b	1.336 a
	SY	0.799 ab	0.267 a	0.129 b	0.278 a	1.167 a	0.848 a	1.438 a
	GR	0.499 b	0.085 b	0.281 a	0.224 ab	0.873 ab	0.433 b	1.178 a
Scion	Rootstock	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
101-14	101-14	0.431 c	0.075 c	0.015 b	0.002 b	0.308 b	0.213 b	0.887 a
SY	101-14	0.838 bc	0.193 abc	0.030 b	0.004 b	0.340 b	0.339 b	1.024 a
GR	101-14	0.707 bc	0.143 abc	0.031 b	0.004 b	0.399 b	0.344 b	1.304 a
110R	110R	1.129 ab	0.254 ab	0.006 b	0.091 ab	0.737 ab	0.378 b	1.349 a
SY	110R	1.473 a	0.114 c	0.002 b	0.021 b	0.564 ab	0.218 b	1.511 a
GR	110R	0.708 bc	0.139 bc	0.004 b	0.051 ab	0.611 ab	0.345 b	1.150 a
SY	SY	0.799 bc	0.267 a	0.129 b	0.278 a	1.167 a	0.848 a	1.438 a
GR	GR	0.499 c	0.085 c	0.281 a	0.224 ab	0.873 ab	0.433 b	1.178 a

Tableau S5.XII- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°2 in well-watered condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Scion, rootstock and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Scion	0.151	0.021	0.017	0.036	0.128	0.006	0.016
	Rootstock	0.106	0.039	0.528	0.0002	0.500	0.002	0.417
	Interaction	0.410	0.005	0.503	0.039	0.093	0.032	0.466
Scion	RGM	0.005 a	0.392 ab	0.077 b	0.014 b	0.071 a	0.068 b	0.013 c
	41B	0.005 a	0.251 ab	0.086 b	0.111 ab	0.083 a	0.294 b	0.042 ab
	SY	0.007 a	0.587 a	0.161 b	0.206 a	0.144 a	0.327 ab	0.042 a
	GR	0.005 a	0.146 b	0.377 a	0.140 a	0.126 a	0.482 a	0.021 bc
Rootstock	RGM	0.005 a	0.260 b	0.212 a	0.100 b	0.118 a	0.193 b	0.023 b
	41B	0.007 a	0.385 b	0.175 a	0.135 b	0.102 a	0.537 a	0.040 a
	SY	0.004 a	0.791 a	0.262 a	0.372 a	0.159 a	0.324 ab	0.039 ab
	GR	0.005 a	0.116 b	0.355 a	0.084 b	0.142 a	0.276 ab	0.019 b
Scion	Rootstock	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
RGM	RGM	0.005 a	0.392 ab	0.077 a	0.014 c	0.071 a	0.068 b	0.013 b
SY	RGM	0.006 a	0.178 b	0.110 a	0.081 bc	0.174 a	0.244 b	0.036 ab
GR	RGM	0.004 a	0.210 b	0.450 a	0.206 ab	0.110 a	0.268 b	0.019 ab
41B	41B	0.005 a	0.251 ab	0.086 a	0.111 bc	0.083 a	0.294 b	0.042 ab
SY	41B	0.010 a	0.791 a	0.112 a	0.165 bc	0.099 a	0.415 b	0.052 a
GR	41B	0.005 a	0.112 b	0.326 a	0.129 bc	0.126 a	0.901 a	0.025 ab
SY	SY	0.004 a	0.791 a	0.262 a	0.372 a	0.159 a	0.324 b	0.039 ab
GR	GR	0.005 a	0.116 b	0.355 a	0.084 bc	0.142 a	0.276 b	0.019 b

		Root tips						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Scion	0.214	0.021	0.971	0.749	0.165	0.949	0.786
	Rootstock	0.025	0.574	0.046	0.010	0.107	0.135	0.841
	Interaction	0.260	0.775	0.862	0.374	0.233	0.975	0.334
Scion	RGM	0.934 a	0.244 a	0.040 a	0.003 a	0.968 a	0.229 a	1.683 a
	41B	1.035 a	0.079 b	0.059 a	0.100 a	0.765 a	0.412 a	1.306 a
	SY	1.205 a	0.113 b	0.054 a	0.052 a	0.797 a	0.285 a	1.574 a
	GR	1.012 a	0.114 b	0.333 a	0.102 a	1.042 a	0.369 a	1.608 a
Rootstock	RGM	0.831 a	0.156 a	0.094 b	0.004 b	0.812 a	0.193 a	1.513 a
	41B	1.409 a	0.092 a	0.044 b	0.086 ab	0.865 a	0.385 a	1.553 a
	SY	0.940 a	0.147 a	0.055 b	0.111 ab	0.989 a	0.345 a	1.554 a
	GR	0.962 a	0.112 a	0.791 a	0.185 a	1.228 a	0.524 a	1.784 a
Scion	Rootstock	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
RGM	RGM	0.934 a	0.244 a	0.040 a	0.003 b	0.968 ab	0.229 a	1.683 a
SY	RGM	0.783 a	0.097 ab	0.080 a	0.002 b	0.523 b	0.155 a	1.281 a
GR	RGM	0.775 a	0.127 ab	0.163 a	0.005 b	0.946 ab	0.194 a	1.576 a
41B	41B	1.035 a	0.079 b	0.059 a	0.100 ab	0.765 ab	0.412 a	1.306 a
SY	41B	1.893 a	0.093 ab	0.026 a	0.044 ab	0.878 ab	0.355 a	1.889 a
GR	41B	1.298 a	0.105 ab	0.045 a	0.114 ab	0.953 ab	0.387 a	1.464 a
SY	SY	0.940 a	0.147 ab	0.055 a	0.111 ab	0.989 ab	0.345 a	1.554 a
GR	GR	0.962 a	0.112 ab	0.791 a	0.185 a	1.228 a	0.524 a	1.784 a

Tableau S5.XIII- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°3 in well-watered condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Scion, rootstock and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Leaves						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Scion	0.586	0.137	< 0.0001	0.188	0.0001	0.0001	< 0.0001
	Rootstock	0.225	0.117	0.134	0.310	0.937	0.338	0.027
	Interaction	0.433	0.342	0.799	0.334	0.207	0.185	0.260
Scion	SO4	0.006 a	0.382 a	0.130 ab	0.050 a	0.056 bc	0.141 b	0.007 b
	161-49	0.001 a	0.439 a	0.010 b	0.245 a	0.020 c	0.054 b	0.004 b
	140Ru	0.004 a	0.145 a	0.004 b	0.071 a	0.042 bc	0.177 b	0.004 b
	SY	0.004 a	0.682 a	0.219 a	0.318 a	0.126 a	0.296 a	0.036 a
	GR	0.003 a	0.434 a	0.300 a	0.350 a	0.089 ab	0.169 b	0.011 b
Rootstock	SO4	0.006 a	0.404 a	0.187 a	0.180 a	0.090 a	0.211 b	0.020 b
	161-49	0.003 a	0.730 a	0.158 a	0.390 a	0.082 a	0.174 b	0.017 b
	140Ru	0.004 a	0.376 a	0.222 a	0.249 a	0.084 a	0.192 b	0.013 b
	SY	0.002 a	0.466 a	0.223 a	0.229 a	0.119 a	0.334 a	0.047 a
Scion	Rootstock	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
SO4	SO4	0.006 a	0.382 a	0.130 ab	0.050 a	0.056 abc	0.141 bc	0.007 c
SY	SO4	0.008 a	0.682 a	0.180 ab	0.321 a	0.138 a	0.334 a	0.042 a
GR	SO4	0.004 a	0.149 a	0.252 ab	0.168 a	0.075 abc	0.157 bc	0.011 bc
161-49	161-49	0.001 a	0.439 a	0.010 b	0.245 a	0.020 c	0.054 c	0.004 c
SY	161-49	0.003 a	0.850 a	0.172 ab	0.357 a	0.114 ab	0.257 ab	0.032 ab
GR	161-49	0.003 a	0.900 a	0.291 a	0.569 a	0.112 ab	0.211 abc	0.014 bc
140Ru	140Ru	0.004 a	0.145 a	0.004 b	0.071 a	0.042 bc	0.177 abc	0.004 c
SY	140Ru	0.004 a	0.732 a	0.303 a	0.365 a	0.132 a	0.259 ab	0.025 abc
GR	140Ru	0.003 a	0.252 a	0.358 a	0.311 a	0.079 abc	0.140 bc	0.008 c
SY	SY	0.002 a	0.466 a	0.223 ab	0.229 a	0.119 ab	0.334 a	0.047 a

		Root tips						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Scion	< 0.0001	0.004	0.999	0.321	< 0.0001	0.030	0.016
	Rootstock	< 0.0001	0.389	< 0.0001	0.001	< 0.0001	0.947	0.003
	Interaction	0.005	0.775	0.991	0.998	0.031	0.119	0.212
Scion	SO4	0.905 b	0.101 ab	0.038 a	0.035 ab	0.392 bc	0.357 ab	1.716 a
	161-49	0.982 b	0.042 b	0.006 a	0.030 ab	0.324 c	0.322 ab	1.963 a
	140Ru	1.327 ab	0.109 ab	0.002 a	0.021 b	0.797 ab	0.430 ab	2.245 a
	SY	1.776 a	0.170 a	0.100 a	0.138 a	1.012 a	0.443 a	2.234 a
	GR	1.127 b	0.064 b	0.015 a	0.023 b	0.440 bc	0.302 b	1.847 a
Rootstock	SO4	1.734 a	0.114 b	0.031 b	0.038 b	0.443 b	0.364 a	2.319 a
	161-49	1.406 ab	0.085 b	0.014 b	0.060 b	0.440 b	0.368 a	2.235 a
	140Ru	1.140 b	0.107 b	0.002 b	0.040 b	1.065 a	0.385 a	1.694 a
	SY	0.858 b	0.208 a	0.352 a	0.297 a	1.036 a	0.435 a	1.656 a
Scion	Rootstock	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
SO4	SO4	0.905 b	0.101 ab	0.038 b	0.035 b	0.392 c	0.357 a	1.716 ab
SY	SO4	3.117 a	0.174 ab	0.031 b	0.069 b	0.668 bc	0.454 a	3.185 a
GR	SO4	1.178 b	0.067 b	0.024 b	0.009 b	0.268 c	0.282 a	2.055 ab
161-49	161-49	0.982 b	0.042 b	0.006 b	0.030 b	0.324 c	0.322 a	1.963 ab
SY	161-49	1.647 b	0.141 ab	0.015 b	0.107 ab	0.680 bc	0.399 a	2.354 ab
GR	161-49	1.591 b	0.070 b	0.020 b	0.043 b	0.317 c	0.383 a	2.388 ab
140Ru	140Ru	1.327 b	0.109 ab	0.002 b	0.021 b	0.797 bc	0.430 a	2.245 ab
SY	140Ru	1.481 b	0.155 ab	0.002 b	0.080 b	1.663 a	0.483 a	1.740 ab
GR	140Ru	0.610 b	0.056 b	0.002 b	0.017 b	0.733 bc	0.242 a	1.097 b
SY	SY	0.858 b	0.208 a	0.352 a	0.297 a	1.036 b	0.435 a	1.656 ab

Tableau S5.XIV- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°1 in well-watered and in water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Combination , treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Root tips							Leaves						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Combinaison	0.0033	0.0312	0.0045	≤ 0.0001	0.0013	0.0336	0.0691	≤ 0.0001	0.0037	0.0048	0.0019	0.0086	0.0460	< 0.0001
	Treatment	0.0013	0.2514	0.3251	0.0125	0.2286	≤ 0.0001	0.0002	0.0418	0.0353	0.0024	0.7798	0.0229	≤ 0.0001	0.0723
	Interaction	0.0024	0.0758	0.9754	0.0545	0.3999	0.8074	0.1531	0.0002	0.0084	0.3383	0.0622	0.4194	0.0228	0.0422
Scion/ rootstock	101-14/101-14	0.55 ab	0.15 ab	0.02 a	0.01 a	0.45 ab	0.47 a	0.83 a	0.003 a	0.34 a	0.04 ab	0.02 a	0.05 a	0.26 ab	0.003 a
	SY/101-14	0.70 abc	0.17 ab	0.04 a	0.01 a	0.35 a	0.60 ab	0.85 a	0.005 a	0.78 ab	0.39 abc	0.25 ab	0.19 b	0.30 ab	0.033 e
	GR/101-14	0.62 abc	0.17 ab	0.03 a	0.00 a	0.44 ab	0.76 ab	1.14 a	0.004 a	0.16 a	0.44 abc	0.09 a	0.13 ab	0.20 ab	0.015 bc
	110R/110R	0.85 bc	0.21 ab	0.02 a	0.06 a	0.62 abc	0.63 ab	1.19 a	0.011 b	1.56 ab	0.01 a	0.07 a	0.01 a	0.26 ab	0.006 ab
	SY/110R	1.01 c	0.17 ab	0.00 a	0.02 a	0.44 ab	0.51 ab	1.03 a	0.004 a	0.56 a	0.21 abc	0.18 a	0.11 ab	0.17 a	0.014 abc
	GR/110R	0.73 abc	0.17 ab	0.02 a	0.05 a	0.55 abc	0.92 ab	1.19 a	0.003 a	0.36 a	0.58 c	0.27 ab	0.11 ab	0.25 ab	0.017 cd
	SY/SY A	0.80 abc	0.25 b	0.18 ab	0.20 b	0.99 c	1.28 b	1.29 a	0.004 a	3.31 b	0.27 abc	0.72 b	0.11 ab	0.35 b	0.026 de
	GR/GR A	0.43 a	0.09 a	0.37 b	0.13 ab	0.85 bc	0.67 ab	1.00 a	0.003 a	0.13 a	0.54 bc	0.12 a	0.11 ab	0.22 ab	0.014 abc
Treatment	Well-watered	0.82 b	0.16 a	0.07 a	0.09 b	0.65 a	0.41 a	1.24 b	0.005 b	0.55 a	0.18 a	0.22 a	0.08 a	0.17 a	0.018 b
	Water deficit	0.60 a	0.18 a	0.11 a	0.03 a	0.54 a	1.09 b	0.89 a	0.004 a	1.36 a	0.44 b	0.23 a	0.13 b	0.34 b	0.014 a

		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
Well-watered	101-14/101-14	0.43 a	0.07 a	0.02 a	0.00 a	0.31 a	0.21 a	0.89 ab	0.003 a	0.24 a	0.04 ab	0.01 a	0.03 a	0.19 a	0.00 ab
	SY/101-14	0.84 ab	0.19 a	0.03 a	0.00 a	0.34 a	0.34 a	1.02 ab	0.006 a	0.83 a	0.13 ab	0.36 ab	0.10 ab	0.24 a	0.04 f
	GR/101-14	0.71 ab	0.14 a	0.03 a	0.00 a	0.40 a	0.34 a	1.30 ab	0.004 a	0.14 a	0.37 ab	0.13 a	0.14 ab	0.12 a	0.02 bcde
	110R/110R	1.13 bc	0.25 a	0.01 a	0.09 abc	0.74 ab	0.38 a	1.35 ab	0.017 b	1.44 a	0.01 a	0.06 a	0.01 a	0.27 a	0.01 abc
	SY/110R	1.47 c	0.11 a	0.00 a	0.02 ab	0.56 ab	0.22 a	1.51 b	0.005 a	0.50 a	0.20 ab	0.23 a	0.09 ab	0.12 a	0.01 abcde
	GR/110R	0.71 ab	0.14 a	0.00 a	0.05 ab	0.61 ab	0.34 a	1.15 ab	0.003 a	0.30 a	0.29 ab	0.38 ab	0.10 ab	0.16 a	0.02 abcde
	SY/SY A	0.80 ab	0.27 a	0.13 a	0.28 c	1.17 b	0.85 ab	1.44 b	0.002 a	0.80 a	0.15 ab	0.39 ab	0.10 ab	0.16 a	0.02 cde
	GR/GR A	0.50 ab	0.08 a	0.28 a	0.22 bc	0.87 ab	0.43 a	1.18 ab	0.002 a	0.07 a	0.29 ab	0.17 a	0.07 ab	0.14 a	0.01 abcde
Water deficit	101-14/101-14	0.66 ab	0.22 a	0.03 a	0.02 ab	0.59 ab	0.72 ab	0.77 ab	0.002 a	0.43 a	0.05 ab	0.02 a	0.06 ab	0.33 ab	0.00 a
	SY/101-14	0.56 ab	0.14 a	0.06 a	0.01 a	0.36 a	0.86 ab	0.67 ab	0.004 a	0.72 a	0.64 ab	0.13 a	0.27 b	0.36 ab	0.03 def
	GR/101-14	0.53 ab	0.20 a	0.02 a	0.00 a	0.49 ab	1.18 ab	0.99 ab	0.003 a	0.18 a	0.52 ab	0.05 a	0.12 ab	0.28 a	0.01 abcd
	110R/110R	0.57 ab	0.16 a	0.03 a	0.04 ab	0.50 ab	0.89 ab	1.03 ab	0.005 a	1.69 a	0.01 a	0.08 a	0.02 a	0.25 a	0.00 ab
	SY/110R	0.54 ab	0.22 a	0.00 a	0.02 ab	0.31 a	0.80 ab	0.55 a	0.002 a	0.62 a	0.23 ab	0.13 a	0.14 ab	0.22 a	0.01 abcd
	GR/110R	0.75 ab	0.20 a	0.03 a	0.04 ab	0.49 ab	1.50 ab	1.22 ab	0.003 a	0.42 a	0.86 b	0.16 a	0.11 ab	0.33 ab	0.02 abcde
	SY/SY A	0.79 ab	0.23 a	0.24 a	0.10 abc	0.75 ab	1.86 b	1.10 ab	0.006 a	6.67 b	0.42 ab	1.16 b	0.14 ab	0.61 b	0.03 ef
	GR/GR A	0.36 a	0.10 a	0.46 a	0.04 ab	0.82 ab	0.92 ab	0.82 ab	0.003 a	0.18 a	0.80 ab	0.08 a	0.14 ab	0.30 a	0.01 abcd

Tableau S5.XV- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°2 in well-watered and in water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Combination , treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Root tips							Leaves						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Combinaison	0.0225	0.0013	0.0015	< 0.0001	0.0004	0.0130	0.9327	0.1231	0.0007	< 0.0001	< 0.0001	0.2940	0.0015	0.0035
	Treatment	0.1392	< 0.0001	0.5155	0.4168	< 0.0001	< 0.0001	0.0173	0.0280	< 0.0001	0.0002	0.0145	0.9693	0.0086	0.0040
	Interaction	0.2999	0.0235	0.6975	< 0.0001	0.7984	0.0093	0.7907	0.5892	0.1594	0.0360	0.2995	0.5208	0.0099	0.3782
Scion/ rootstock	RGM/RGM	0.93 a	0.34 bc	0.06 a	0.00 a	0.83 abc	0.72 ab	1.38 a	0.005 a	0.57 ab	0.12 ab	0.01 a	0.06 a	0.13 a	0.02 a
	SY/RGM	0.80 a	0.21 abc	0.06 a	0.00 a	0.47 a	1.44 b	1.34 a	0.007 a	0.69 ab	0.15 abc	0.17 ab	0.16 a	0.40 abc	0.04 ab
	GR/RGM	0.79 a	0.14 ab	0.13 a	0.00 a	0.74 abc	0.53 a	1.50 a	0.005 a	0.41 a	0.50 cd	0.24 ab	0.10 a	0.51 bc	0.04 ab
	41B/41B	0.92 a	0.12 a	0.04 a	0.09 b	0.57 ab	0.89 ab	1.13 a	0.005 a	0.51 a	0.10 a	0.10 ab	0.06 a	0.32 ab	0.04 ab
	SY/41B	1.44 a	0.27 abc	0.04 a	0.14 b	0.73 abc	1.29 ab	1.55 a	0.012 a	1.90 b	0.32 abc	0.32 bc	0.18 a	0.46 abc	0.08 b
	GR/41B	1.34 a	0.13 ab	0.08 a	0.09 ab	0.73 abc	0.91 ab	1.40 a	0.006 a	0.53 a	0.72 d	0.12 ab	0.15 a	0.68 c	0.03 a
	SY/SY B	0.99 a	0.41 c	0.08 a	0.16 b	0.91 bc	1.55 b	1.31 a	0.010 a	1.87 b	0.39 abcd	0.50 c	0.13 a	0.55 bc	0.05 ab
	GR/GR B	0.74 a	0.19 ab	0.60 b	0.11 b	1.10 c	0.92 ab	1.37 a	0.007 a	0.19 a	0.47 bcd	0.12 ab	0.12 a	0.38 abc	0.03 a
Treatment	Well-watered	1.08 a	0.13 a	0.16 a	0.07 a	0.91 b	0.33 a	1.57 b	0.005 a	0.36 a	0.22 a	0.15 a	0.12 a	0.35 a	0.03 a
	Water deficit	0.91 a	0.33 b	0.11 a	0.09 a	0.63 a	1.73 b	1.19 a	0.009 b	1.33 b	0.46 b	0.26 b	0.12 a	0.51 b	0.05 b

		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
Well-watered	RGM/RGM	0.93 ab	0.24 abc	0.04 a	0.00 a	0.97 ab	0.23 a	1.68 a	0.005 a	0.39 a	0.08 a	0.01 a	0.07 a	0.07 a	0.01 a
	SY/RGM	0.78 ab	0.10 ab	0.08 a	0.00 a	0.52 a	0.16 a	1.28 a	0.006 a	0.18 a	0.11 a	0.08 ab	0.17 a	0.24 ab	0.04 ab
	GR/RGM	0.78 ab	0.13 abc	0.16 ab	0.01 a	0.95 ab	0.19 a	1.58 a	0.004 a	0.21 a	0.45 a	0.21 ab	0.11 a	0.27 ab	0.02 a
	41B/41B	1.04 ab	0.08 a	0.06 a	0.10 abcd	0.76 ab	0.41 a	1.31 a	0.005 a	0.25 a	0.09 a	0.11 ab	0.08 a	0.29 ab	0.04 ab
	SY/41B	1.89 b	0.09 ab	0.03 a	0.04 ab	0.88 ab	0.36 a	1.89 a	0.010 a	0.79 ab	0.11 a	0.16 ab	0.10 a	0.41 abc	0.05 ab
	GR/41B	1.30 ab	0.10 ab	0.05 a	0.11 abcd	0.95 ab	0.39 a	1.46 a	0.005 a	0.11 a	0.33 a	0.13 ab	0.13 a	0.90 c	0.03 a
	SY/SY B	0.94 ab	0.15 abc	0.05 a	0.11 abcd	0.99 ab	0.35 a	1.55 a	0.004 a	0.79 ab	0.26 a	0.37 abc	0.16 a	0.32 abc	0.04 ab
	GR/GR B	0.96 ab	0.11 abc	0.79 b	0.18 bcd	1.23 b	0.52 a	1.78 a	0.005 a	0.12 a	0.36 a	0.08 ab	0.14 a	0.28 ab	0.02 a
Water deficit	RGM/RGM	0.92 ab	0.44 bcd	0.09 a	0.00 a	0.69 ab	1.22 abc	1.08 a	0.004 a	0.75 ab	0.16 a	0.01 a	0.05 a	0.18 ab	0.02 a
	SY/RGM	0.81 ab	0.33 abcd	0.04 a	0.00 a	0.42 a	2.73 d	1.41 a	0.008 a	1.21 abc	0.19 a	0.26 abc	0.14 a	0.55 abc	0.05 ab
	GR/RGM	0.80 ab	0.15 abc	0.09 a	0.00 a	0.53 a	0.86 a	1.43 a	0.006 a	0.60 ab	0.55 ab	0.27 abc	0.09 a	0.75 bc	0.06 ab
	41B/41B	0.81 ab	0.17 abc	0.03 a	0.09 abc	0.37 a	1.37 abcd	0.96 a	0.004 a	0.76 ab	0.10 a	0.09 ab	0.04 a	0.34 abc	0.03 a
	SY/41B	0.99 ab	0.45 cd	0.05 a	0.24 d	0.59 ab	2.22 bcd	1.22 a	0.015 a	3.01 c	0.53 ab	0.47 bc	0.27 a	0.51 abc	0.10 b
	GR/41B	1.38 ab	0.16 abc	0.11 a	0.06 ab	0.51 a	1.43 abcd	1.33 a	0.007 a	0.95 abc	1.11 b	0.10 ab	0.18 a	0.46 abc	0.03 ab
	SY/SY B	1.02 ab	0.61 d	0.11 a	0.21 cd	0.85 ab	2.46 cd	1.14 a	0.014 a	2.68 bc	0.48 a	0.60 c	0.11 a	0.72 bc	0.07 ab
	GR/GR B	0.52 a	0.26 abc	0.41 ab	0.04 a	0.98 ab	1.32 abcd	0.95 a	0.008 a	0.27 a	0.57 ab	0.16 ab	0.10 a	0.48 abc	0.05 ab

Tableau S5.XVI- The transcript abundance of 7 *VviPIP* genes in the roots tips and leaves of genotypes studied in experiment n°3 in well-watered and in water deficit condition. p-values from a two-way ANOVA (n = 3) are presented in first block of the table for each gene in leaves and root tips. Combination , treatment and interaction effects are presented within the following three bold blocks for each tissue, values with the same letter are not statistical different (Tukey-HSD). When p-values are less to 0.05, the highest expression level is colored in dark grey, while the lowest is colored in light grey.

		Root tips							Leaves						
		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
	Combinaison	< 0.0001	0.0289	< 0.0001	≤ 0.0001	< 0.0001	0.1276	< 0.0001	0.3620	0.0776	< 0.0001	0.0008	0.0188	< 0.0001	< 0.0001
	Treatment	0.0395	0.3702	0.2968	0.0037	0.0044	< 0.0001	0.0340	0.6244	0.0157	0.0005	0.3422	0.1112	0.1630	0.0280
	Interaction	0.0488	0.6111	0.0039	0.0140	0.3796	0.1966	0.0063	0.1194	0.2390	0.0131	0.7607	0.2796	0.6854	0.4744
Scion/ rootstock	SO4/SO4	0.93ab	0.11a	0.07a	0.02a	0.33abc	0.52a	1.71abc	0.004a	0.46a	0.14a	0.03a	0.05a	0.10a	0.01a
	SY/SO4	2.30c	0.12a	0.04a	0.04a	0.47abc	0.64a	2.47cd	0.005a	0.65a	0.25a	0.29ab	0.20a	0.32cd	0.04cd
	GR/SO4	1.17ab	0.07a	0.03a	0.01a	0.26a	0.45a	1.89abcd	0.003a	0.26a	0.45b	0.30ab	0.09a	0.18abc	0.01ab
	161-49/161	1.16ab	0.07a	0.01a	0.03a	0.35abc	1.15a	2.25bcd	0.001a	1.74a	0.02a	0.28ab	0.03a	0.10a	0.01a
	SY/161-49	1.62bc	0.12a	0.01a	0.07a	0.53abc	0.81a	2.83d	0.003a	1.20a	0.27ab	0.47b	0.11a	0.27bcd	0.04d
	GR/161-49	1.32ab	0.07a	0.02a	0.03a	0.27ab	0.86a	1.92abcd	0.004a	1.02a	0.83b	0.58b	0.20a	0.25bcd	0.02abc
	140Ru/140	1.06ab	0.18a	0.00a	0.03a	0.79bc	1.36a	1.62abc	0.003a	0.23a	0.01a	0.06a	0.04a	0.19abc	0.01a
	SY/140Ru	1.43abc	0.17a	0.00a	0.05a	1.32d	1.01a	1.74abc	0.005a	0.73a	0.29ab	0.31ab	0.10a	0.27bcd	0.03bcd
	GR/140Ru	0.64a	0.08a	0.00a	0.02a	0.68abc	0.80a	1.05a	0.003a	0.47a	0.84ab	0.30ab	0.17a	0.16ab	0.01ab
	SY/SY	0.79ab	0.23a	0.22b	0.19b	0.82cd	1.13a	1.42ab	0.004a	0.91a	0.28ab	0.32ab	0.10a	0.36d	0.05d
	Well-watered	1.37b	0.11a	0.05a	0.07b	0.69b	0.38a	2.04b	0.004a	0.50a	0.19a	0.27a	0.09a	0.21a	0.02a
	Water deficit	1.11a	0.13a	0.03a	0.03a	0.48a	1.37b	1.74a	0.004a	1.04b	0.48b	0.32a	0.13a	0.23a	0.03b

		PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4	PIP1.1	PIP1.2-4	PIP1.3-5	PIP2.1	PIP2.2	PIP2.3	PIP2.4
Well-watered	SO4/SO4	0.91a	0.10a	0.04a	0.03a	0.39a	0.36	1.72abc	0.006	0.38a	0.13a	0.05a	0.06a	0.14abc	0.01abc
	SY/SO4	3.12b	0.17a	0.03a	0.07a	0.67a	0.45ab	3.19bc	0.008a	0.68ab	0.18a	0.32a	0.14a	0.33cd	0.04def
	GR/SO4	1.18a	0.07a	0.02a	0.01a	0.27a	0.28ab	2.06abc	0.004a	0.15a	0.25a	0.17a	0.08a	0.16abcd	0.01abcd
	161-49/161	0.98a	0.04a	0.01a	0.03a	0.32a	0.32ab	1.96abc	0.001a	0.44a	0.01a	0.24a	0.02a	0.05a	0.00a
	SY/161-49	1.65a	0.14a	0.02a	0.11a	0.68a	0.40ab	2.35abc	0.003a	0.85ab	0.17a	0.36a	0.11a	0.26abcd	0.03abcdef
	GR/161-49	1.59a	0.07a	0.02a	0.04a	0.32a	0.38ab	2.39abc	0.003a	0.90ab	0.29a	0.57a	0.11a	0.21abcd	0.01abcd
	140Ru/140	1.33a	0.11a	0.00a	0.02a	0.80a	0.43ab	2.25abc	0.004a	0.14a	0.00a	0.07a	0.04a	0.18abcd	0.00ab
	SY/140Ru	1.48a	0.15a	0.00a	0.08a	1.66b	0.48ab	1.74abc	0.004a	0.73ab	0.30a	0.36a	0.13a	0.26abcd	0.03abcdef
	GR/140Ru	0.61a	0.06a	0.00a	0.02a	0.73a	0.24a	1.10a	0.003a	0.25a	0.36a	0.31a	0.08a	0.14abc	0.01abc
	SY/SY	0.86a	0.21a	0.35b	0.30b	1.04ab	0.43ab	1.66ab	0.002a	0.47a	0.22a	0.23a	0.12a	0.33cd	0.05ef
Water deficit	SO4/SO4	0.95a	0.11a	0.11a	0.01a	0.27a	0.68abc	1.71abc	0.002a	0.54ab	0.16a	0.01a	0.04a	0.06ab	0.01abc
	SY/SO4	1.48a	0.08a	0.05a	0.02a	0.28a	0.83abc	1.75abc	0.003a	0.62ab	0.32a	0.25a	0.27a	0.30cd	0.04bcdef
	GR/SO4	1.17a	0.08a	0.04a	0.01a	0.25a	0.63abc	1.73abc	0.003a	0.38a	0.65ab	0.42a	0.11a	0.21abcd	0.02abcde
	161-49/161	1.34a	0.09a	0.02a	0.03a	0.37a	1.98bc	2.53abc	0.001a	3.04b	0.03a	0.31a	0.04a	0.14abc	0.01ab
	SY/161-49	1.59a	0.10a	0.01a	0.03a	0.38a	1.21abc	3.31c	0.003a	1.55ab	0.36a	0.59a	0.11a	0.28bcd	0.05f
	GR/161-49	1.05a	0.08a	0.01a	0.03a	0.23a	1.34abc	1.46a	0.006a	1.14ab	1.38b	0.60a	0.30a	0.29cd	0.03abcdef
	140Ru/140	0.79a	0.26a	0.00a	0.04a	0.79a	2.30c	0.99a	0.003a	0.32a	0.01a	0.04a	0.04a	0.20cd	0.01ab
	SY/140Ru	1.38a	0.18a	0.00a	0.03a	0.98ab	1.53abc	1.74abc	0.006a	0.73ab	0.28a	0.26a	0.07a	0.29cd	0.04cdef
	GR/140Ru	0.66a	0.11a	0.01a	0.02a	0.62a	1.37abc	1.01a	0.004a	0.69ab	1.32b	0.29a	0.26a	0.17abcd	0.02abcde
	SY/SY	0.72a	0.24a	0.08a	0.08a	0.60a	1.83abc	1.19a	0.005a	1.36ab	0.34a	0.41a	0.08a	0.38d	0.05ef

Discussion et perspectives

Le travail présenté dans ce manuscrit a consisté à décrire les réponses physiologiques et moléculaires de différents génotypes greffés ou non, en condition de contrainte hydrique édaphique. Les propriétés métaboliques et transcriptomiques liées à l'ABA, mais aussi au transport de l'eau, ont tout d'abord été caractérisées sur neuf génotypes de vigne non greffés présentant des capacités d'adaptation à la sécheresse variables. L'objectif majeur des chapitres 2 et 3 a été de rechercher à associer les propriétés constitutives et de réponse au déficit hydrique de ces différents génotypes au niveau physiologique et moléculaire, et de les interpréter en fonction de leur capacité reconnue d'adaptation à la sécheresse au vignoble (Carbonneau, 1985; Schultz, 1996). Cette étude a été poursuivie dans les chapitres 4 et 5 sur les homogreffes respectives et sur les hétérogreffes avec les greffons Syrah et Grenache. L'analyse plus fine du comportement transpiratoire en réponse au déficit hydrique édaphique a permis d'évaluer le rôle du porte-greffe sur le comportement iso- et anisohydrique bien défini pour ces génotypes de greffon. Ces travaux permettent de proposer des hypothèses quant à la régulation du transport de l'eau et de la signalisation ABA chez une plante greffée. Dans un second temps, les choix méthodologiques faits pour mener cette étude seront discutés. Finalement, nous proposerons des perspectives de recherche afin de tester les hypothèses avancées.

I- Discussion générale

Propriétés constitutives des génotypes

De manière séparée ou conjointe, la discrimination des génotypes sur la base des réponses transcriptomiques liées à l'ABA et aux aquaporines lors du déficit hydrique a permis de classer l'ensemble des génotypes étudiés selon leur origine génétique et leur capacité d'adaptation à la sécheresse. Ce résultat majeur indique que bien que la régulation transcriptomique soit globalement bien conservée dans les différents fonds génétiques étudiés, elle présente des variations caractéristiques des différentes espèces de Vitis. Cette analyse illustre parfaitement la relation entre les propriétés d'adaptation aux différentes conditions environnementales et l'origine génétique chez la vigne (Pongrácz, 1983; Galet, 1988; Morano et Walker, 1995; Arrigo et Arnold, 2007).

Cette discrimination est en lien étroit avec l'expression des gènes *VviABF2, VviPIP1.1* et *VviPIP2.1* au niveau foliaire et *VviSnRK2.6* et *VviPIP1.3/5* au niveau foliaire et racinaire, indiquant que l'expression des gènes liés à l'ABA et aux aquaporines participent ensemble à la différenciation des génotypes. Mis à part le gène *VviPIP1.1* qui est légèrement réprimé au cours du déficit hydrique, les gènes impliqués dans cette discrimination ne répondent pas à la contrainte hydrique. Dans la limite des génotypes étudiés, l'adaptation des génotypes au déficit hydrique apparait alors principalement associée à des caractéristiques constitutives plutôt qu'à des réponses variables, au moins au niveau transcriptomique. Cependant ces résultats sont mis en évidence en situation non transpirante (fin de nuit) ce qui n'exclut pas l'existence d'autres mécanismes lors de la phase diurne.

De manière intéressante, l'expression du gène *VviSnRK2.6* est constitutivement plus importante pour les génotypes 110R et 140Ru considérés comme tolérant à la sécheresse (Carbonneau, 1985). Une différence d'expression constitutive de ce gène dans les racines du porte-greffe 140Ru a déjà été rapportée (Henderson et al., 2014). Chez Arabidopsis, OST1, l'orthologue de *VviSnRK2.6* est impliqué au niveau foliaire dans la régulation des flux de potassium, d'anions et dans la régulation post-traductionnelle de l'aquaporine AtPIP2.1 permettant le contrôle des flux hydriques au niveau des stomates (Acharya et al., 2013; Grondin et al., 2015). Il a aussi été démontré que ce gène intervient dans la régulation du métabolisme carboné au niveau des feuilles (Zheng et al., 2010). Au niveau racinaire son rôle n'est pas établi, mais il pourrait être de participer à la régulation des flux hydriques ou à la génération d'une force osmotique via son rôle sur l'activité des aquaporines. Ce dernier mécanisme permettrait de développer une tension supérieure au niveau de l'apoplasme des tissus racinaires permettant d'accroitre la capacité d'extraction de l'eau du sol (Levit, 1980 ; Save et al., 1993 citée par Alsina et al., 2007), propriété souvent évoqué comme déterminante pour d'adaptation à la sécheresse des porte-greffes (Marguerit, 2010). La régulation osmotique est considérée comme l'un des mécanismes majeurs de réponse à la contrainte hydrique (Cramer et al., 2007 ; Jarzyniak et Jasinski, 2014) , mais elle a peu été étudiée chez la vigne comme critère d'adaptation à la sécheresse. Elle peut également contribuer à la réparation de l'embolisme chez la vigne notamment pour les parties basales (racines et tronc) (Brodersen et McElrone, 2013).

En situation greffée et pour des prélèvements réalisés en phase diurne (donc transpiratoire), des différences constitutives apparaissent également en lien avec la tolérance des génotypes en tant que porte-greffe et font ressortir les mêmes gènes que précédemment discuté (à l'exception de *VviPIP1.1*). Par ailleurs, en situation de déficit hydrique, l'expression de *VviNCED1*et *VviNCED2* au niveau foliaire et racinaire et *VviPP2C4* et *VviPP2C9* au niveau foliaire discrimine les génotypes 161-49 et 101-14, plutôt considérés comme sensibles ainsi que 110R et 140Ru considérés comme tolérants. Dans ces conditions ces quatre génotypes présentent une réponse globale liée à la biosynthèse et à la signalisation ABA, qui les individualise des autres génotypes. De plus 161-49, 110R et 140Ru en homogreffe sont largement différenciés par leur teneur en ABA-GE foliaire, et 101-14 au niveau racinaire. Ces génotypes semblent donc particuliers quant au métabolisme et à la signalisation ABA, cependant sans lien évident avec leurs capacités reconnues d'adaptation à la sécheresse.

L'expression constitutive des gènes *VviPIP1.2/4, VviPIP1.3/5*et *VviPIP2.4* au niveau foliaire permet d'établir une forte discrimination entre les greffons Syrah et Grenache. Il faut également noter en situation de contrainte hydrique une grande variabilité en matière d'expression des aquaporines entre les hétérogreffes avec le greffon Syrah, alors qu'elle est plus réduite pour le greffon Grenache. Cette variabilité est associée soit à l'expression du gène *VvPIP2.4* dans les racines (par SY/161-49 ; SY/SO4, SY/110R), soit à l'expression de *VviPIP1.1* et *VviPIP2.4* dans les feuilles et *VviPIP1.2/4* et *VviPIP2.1* dans les racines (SY/41B). Au niveau racinaire, il a été montré que l''expression racinaire de *VviPIP2.4* est corrélée à la conductivité hydraulique racinaire et joue un rôle majeur dans le contrôle transpiratoire (Perone et al., 2012). Au niveau foliaire son rôle n'est pas démontré, mais l'expression constitutivement supérieure chez la variété anisohydrique pourrait permettre le maintien de la conductance hydraulique foliaire, notamment en situation de déficit hydrique. Ces résultats laissent aussi envisager que l'expression racinaire des aquaporines pourrait répondre à un signal foliaire tel que décrit par Vandeleur et al., (2014), puisque pour un même porte-greffe, son niveau d'expression varie avec le greffon considéré.

L'ABA est plus une conséquence qu'un signal

Notre étude a montré qu'il existe des différences entre les génotypes sur les capacités d'accumulation de l'ABA dans de la sève xylémienne, ainsi que sur la sensibilité de la transpiration à la concentration en ABA dans le xylème. De plus au niveau transcriptomique, la réponse des génotypes tolérants est différenciée de celle des génotypes sensibles. Cependant l'expression de l'ensemble des gènes impliqués dans le métabolisme de l'ABA et de sa signalisation au niveau foliaire et racinaire sont fortement corrélés avec le potentiel hydrique de la plante (ou du substrat) en situation greffée ou non. Les différences observées à ce niveau entre les génotypes tolérants et sensibles pourraient donc être davantage la conséquence de niveaux de déficit hydrique différents que de mécanismes de réponses différents. De plus en situation non greffée, la transpiration apparait moins sensible à la concentration en ABA dans le xylème pour le génotype sur-accumulant ce composé (Grenache).

A l'inverse la transpiration du génotype 140Ru est plus sensible à l'ABA xylémien sans exprimer de capacité d'accumulation supérieure. Ces différences de sensibilité à l'ABA et de réponse transcriptomique pourraient être associées à un signal hydraulique modifiant localement le potentiel hydrique comme démontré au niveau foliaire (Shatil-Cohen et al., 2011; Pantin et al., 2013). De plus le rôle de l'ABA racinaire dans la signalisation du statut hydrique apparait dans certains cas indépendant de la régulation de la conductance hydraulique (Lovisolo et al., 2002). La régulation de la transpiration apparait alors sous un contrôle conjoint mais pas forcément lié.

Le signal hydraulique semble privilégié

Par différentes approches, notre travail a mis en évidence des différences de conductance hydraulique au niveau racinaire, de la tige mais aussi au niveau de la plante entière et de contribution des aquaporines au transport de l'eau dans la plante. De la même manière, des différences sont observées entre génotypes dans la modulation de la transpiration par le potentiel hydrique alors qu'en situation greffée, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet significatif de la combinaison greffon-porte-greffe sur la conductance hydraulique de la plante mesurée par la méthode évaporative. En situation homo- ou hétérogreffée, l'ensemble des combinaisons définies comme étant isohydriques possèdent une plus forte diminution de leur conductance hydraulique en situation de déficit hydrique, ce qui confirme l'importance de ce caractère dans le mécanisme de régulation stomatique (Vandeleur et al., 2009).).

Lien entre hydraulicité racinaire et une meilleure régulation des flux ?

En situation non greffée, le Grenache est caractérisé par la conductance hydraulique la plus élevée au niveau de la plante entière, alors que cette propriété n'a pas pu être mise en évidence en situation greffée. Ce fait pourrait être la conséquence du rôle de la greffe sur ce caractère (De Herralde et al., 2006) ou d'une résistance hydraulique limitante pour les génotypes de porte-greffes étudiés. En tant que bouture, la Syrah présente également une conductance spécifique racinaire (par unité de biomasse) et une conductivité hydraulique de la tige (par unité de longueur) élevée. En situation d'homogreffe sous contrainte hydrique, elle est aussi caractérisée par un potentiel de tige moins négatif et une moins grande réduction de la conductance hydraulique à l'échelle de la plante qui pourrait être associée à son caractère anisohydrique. Ce comportement est modifié en fonction du porte-greffe, suggérant fortement que le génotype du porte-greffe contribue au contrôle de la conductance à l'échelle de la plante greffée.

Le génotype 110R possède quant à lui la plus grande conductance hydraulique spécifique (par unité de biomasse) au niveau racinaire, ce qui pourrait le conduire à une sensibilité accrue à l'embolisme (Choat et al., 2008). Mais nous avons montré que ce génotype est caractérisé par une part importante des flux hydriques liée à l'activité des aquaporines. Par ailleurs les racines de ce génotype présentent des vaisseaux de petit diamètre et avec une part croissante des flux hydriques véhiculés par des vaisseaux de faible diamètre en situation de contrainte hydrique (Peccoux, 2011). Ces propriétés peuvent le protéger de l'embolie. Le 140Ru est très proche génétiquement du 110R, et nos analyses transcriptomiques en témoignent. Dans la littérature, il est décrit comme un porte-greffe ayant une conductance hydraulique élevée (Tramontini et al., 2013) et une part importante des flux hydriques racinaires contrôlée par l'activité des aquaporines (Lovisolo et al., 2008a ; Tramontini et al. 2013). Nous ne retrouvons pas ces spécificités physiologiques dans notre étude, hormis le fait que ce génotype en tant que bouture, présente une réduction plus marquée de la transpiration lorsque le potentiel hydrique diminue pendant l'application de la contrainte hydrique De plus il apparait que le 140Ru ne modifie par le caractère iso ou anisohydrique du greffon. D'autres mécanismes pourraient expliquer la tolérance élevée à la sécheresse, comme sa capacité à développer un enracinement profond (Southey et Archer, 1988).

Un rôle du greffon sur la régulation de la conductance hydraulique racinaire et l'implication d'un signal des feuilles vers les racines?

Déjà envisagé pour expliquer les réponses très variables observées avec les hétérogreffes de Syrah, la contribution d'un signal émis par le greffon pour contrôler le fonctionnement racinaire est illustré également par la réponse des hétérogreffes avec le Grenache qui se différencient par un effet variable sur l'expression de *VviPIP2.4* au niveau racinaire. La corrélation positive mise en évidence sur boutures entre l'abondance des transcrits *VviPIP1.1* dans les feuilles et *VviSnRK2.6* dans les racines pourrait aussi être expliquée par l'existence d'un signal entre les feuilles et les racines, tel qu'il a été mis en évidence chez la vigne pour moduler la conductance hydraulique racinaire (Vandeleur et al., 2014; Chaumont et Tyerman, 2014).

Le rôle de l'ABA sur la conductivité hydraulique racinaire

Nos observations sur la régulation transcriptomique et métabolique liées à l'ABA est ses produits de stockage et de dégradation montrent clairement que la réponse au déficit hydrique est plus intense dans les racines que dans les feuilles. Nous montrons également que les réponses dans les feuilles sont en grande partie indépendantes des réponses dans les racines, notamment au niveau du métabolisme de l'ABA. La réponse dans les feuilles pourrait uniquement dépendre du potentiel hydrique local au niveau des tissus du limbe ou du pétiole, sans nécessité d'un signal ABA. Pourtant l'expression de certaines aquaporines racinaires et foliaires (en particulier *VviPIP2.4* dans les racines) est bien corrélée aux teneurs en ABA dans les mêmes tissus. Ce résultat est en accord avec le rôle que joue l'ABA dans la gestion du transport de l'eau au sein des tissus. L'ABA produit dans les racines en situation de contrainte hydrique pourrait modifier la conductance hydraulique du système racinaire en régulant l'expression et l'activité de certaines aquaporines, contribuant ainsi à moduler un signal hydraulique des racines vers les feuilles pour contrôler la transpiration foliaire (Vandeleur et al., 2009; Lovisolo et al., 2010; Aroca et al., 2012, Pantin et al., 2013).

II- Justification des choix méthodologiques

Notre étude repose sur l'analyse de neuf génotypes de vigne ayant à la fois un fond génétique varié et des propriétés d'adaptation à la contrainte hydrique différentes. Nous avons travaillé sur de jeunes plants en pot soumis à une contrainte hydrique mis en place sur un pas de temps court (quelques jours) et d'intensité moyenne à forte. Nous avons caractérisé au niveau physiologique et moléculaire la réponse de ces génotypes sous forme de boutures ou de plants greffés. Nous avons généré 23 combinaisons greffon/porte-greffe. Nous avons étudié la réponse transcriptomique de 19 gènes liés au métabolisme et à la signalisation ABA et codant des aquaporines à différents stades de l'application d'une contrainte hydrique. Nous avons travaillé à la fois sur le compartiment foliaire et racinaire, et évalué un grand nombre de caractères physiologiques et métaboliques liés à la régulation de la transpiration chez la vigne. L'objectif était de mieux comprendre le rôle du porte-greffe dans le contrôle de la transpiration chez la vigne greffée et d'essayer de déterminer la part liée à un signal chimique (ABA) et à un signal hydraulique.

Cette approche ambitieuse combinant écophysiologie et analyse transcriptomique nous a permis de générer un grand jeu de données qui n'a pas été encore exploité dans son intégralité. La transpiration est disponible pour chaque combinaison à un pas de temps de 15 minutes, ce qui laisse entrevoir les possibilités en lien avec les mécanismes de régulation à l'échelle de la journée ou permettrait également d'étudier la transpiration nocturne qui semble jouer un rôle important dans l'adaptation à la sécheresse. De plus, l'ensemble des prélèvements n'a pas été étudié et analysé. Nous disposons d'analyses métaboliques et d'échantillons pour les analyses transcriptomiques correspondant au stade déficit hydrique prolongé et rehydratation. D'après les éléments de caractérisation physiologique (transpiration, échanges gazeux), des informations intéressantes pourraient sans doute être retirées de l'analyse de ces stades ultérieurs. Comprendre les mécanismes de régulation en déficit hydrique prolongé et après réhydratation permettrait d'étudier les processus à plus long terme pour mieux déterminer l'influence du porte-greffe dans la mise en place de processus d'adaptation. Au niveau méthodologique, nous avons mis en place au laboratoire les mesures de conductivité hydraulique à l'aide de l'appareil HPFM, que nous n'avons malheureusement pas pu exploiter complètement.

Nos travaux ont permis de mettre en évidence certains paramètres moléculaires constitutifs, mais également associés à la réponse au déficit hydrique, qui permettent de très bien caractériser les génotypes étudiés en fonction de leur fond génétique. En poursuivant l'étude avec deux greffons connus pour leur caractère iso ou anisohydrique, nos résultats montrent que la réponse du greffon peut être modifiée par le génotype de porte-greffe, mais indépendamment du fond génétique ou de la capacité connue d'adaptation à la sécheresse du porte-greffe. Les interactions greffon-porte-greffe sont donc largement imprévisibles. Une telle approche n'a jamais été conduite auparavant. Dans la plupart des cas, les études se focalisent sur la comparaison de deux génotypes contrastés, greffés avec un seul greffon. En dehors des études de génétique quantitative conduites sur des descendances (Marguerit et al., 2012, Coupel-Ledru et al., 2014), le travail le plus complet présent dans la littérature est celui de Tramontini et al. (2013) qui combine 4 greffons à 2 porte-greffes. Notre étude va plus loin en combinant 2 greffons à 7 porte-greffes et en intégrant les homogreffes pour chaque génotype. Considérant les nombreux mécanismes régulant la transpiration et l'adaptation à la sécheresse chez une plante pérenne, une telle approche nous semblait nécessaire notamment pour mieux appréhender la diversité des réponses possibles et donner plus de généricité aux résultats.

Cependant le nombre de génotypes et de combinaisons à étudier a forcément limité notre capacité d'analyses et de mise en œuvre d'expérimentations spécifiques pour vérifier certaines hypothèses mécanistiques. L'étude de l'effet du greffage en lui-même sur l'hydraulicité de la plante et celle de l'architecture et de l'anatomie racinaire n'ont pas pu être mises en oeuvre. Il a fallu également faire des choix pour les prélèvements et les mesures qui ne pouvaient pas être réalisés tous en même temps. Par exemple, pour valider nos hypothèses sur la régulation du caractère iso- ou anisohydrique des différents génotypes, la détermination du potentiel hydrique d'une feuille transpirante aurait été nécessaire. Mais le grand nombre de feuilles prélevées par plante pour les mesures de conductance hydraulique, et des potentiels hydriques de base et de tige ont déjà entrainé le risque de déséquilibrer la balance hormonale de la plante ou sa régulation hydraulique. L'étude de plants plus âgés avec plus de feuilles aurait demandé une logistique plus importante (préparation des plants au moins un an avant les expérimentations) et une déshydratation du substrat encore plus rapide.

Nous avons privilégié une analyse transcriptomique de 2 groupes de gènes l'un liés au métabolisme et à la signalisation ABA, l'autre codant des aquaporines de type PIP. Pour ces 2 groupes de gènes, nous avons utilisé les informations présentes dans la littérature pour sélectionner les isoformes qui paraissaient présenter le plus d'intérêt. La plupart de ces gènes appartiennent à des familles multigéniques et d'autres isoformes auraient pu certainement être sélectionnées. Pour les aquaporines, des représentants des TIPs auraient pu être analysés en raison de leur intérêt dans ce genre d'étude. Comme l'analyse transcriptomique ne représentait qu'une partie du travail, nous avons préféré nous baser sur les sources déjà publiées pour la vigne, et qui permettaient une éventuelle comparaison de nos résultats. Nous nous sommes également limités aux aspects transcriptomiques, tout en sachant que la plupart de ces gènes sont soumis à des processus de régulation post-transcriptionnelle majeurs. Les corrélations obtenues n'ont pas valeur de preuve de cause à effet, mais elles nous permettent de proposer des hypothèses sur les mécanismes impliqués et de limiter le nombre de gènes d'intérêt à étudier ultérieurement pour analyser plus finement les processus sur quelques génotypes ou dans des approches couplées à de la génétique.

III- Perspectives

La poursuite de ce travail devra s'attacher à vérifier les hypothèses émises sur les mécanismes de régulation de la transpiration par le porte-greffe. Des combinaisons greffon*porte-greffe particulières pourraient être sélectionnées en fonction de nos résultats.

L'utilisation de mutants naturels ou de plantes transgéniques est un très bon outil pour analyser finement les mécanismes physiologiques. Chez la vigne, la génération de mutants par transgénèse est possible, mais nécessite un travail fastidieux. Une telle approche apporterait des informations cruciales mais il faudrait bien choisir les gènes à étudier, ce qui ne semble pas évident en raison de la redondance de l'activité physiologique des membres de chacune des familles multigéniques notamment pour les aquaporines. On pourrait valoriser les mutants existants tels que celui décrit par Perrone et al. (2012) en les étudiant dans le cadre de combinaisons greffon * porte-greffe.

Pour préciser le rôle de l'ABA dans la signalisation du statut hydrique entre parties racinaires et foliaires, des expérimentations avec application externe d'ABA au niveau du système racinaire ou par perfusion sous le point de greffe pourraient être mises en œuvre. Elle permettrait d'analyser le rôle de la production racinaire d'ABA sur les propriétés hydrauliques locales. De telles expérimentations permettraient également de tester l'importance du point de greffe sur la signalisation hormonale pour différents greffons. Le génotype Grenache comme porte-greffe présente des capacités importantes d'accumulation en ABA dans le xylème. Il pourrait être utilisé comme porte-greffe pour également contribuer à cette étude de manière plus physiologique,

Pour mieux analyser les hypothèses hydrauliques, l'application de pression ou de dépression au niveau du système racinaire entier, ou en appliquant des pressions ou torsions externes au niveau de la tige, permettrait de mieux appréhender les mécanismes. Ces études pourraient être menées conjointement sur quelques génotypes présentés au cours du manuscrit, afin de vérifier comment les deux types de signaux appliqués au niveau du système racinaire sont capables d'influencer le phénotype transpiratoire propre des greffons. Dans ce cas, toutes les combinaisons possibles entre les génotypes étudiés devraient être analysées.

Il existe très peu de données sur les propriétés hydrauliques des différents génotypes de vigne et sur celles d'une plante greffée. Un travail sur les caractéristiques du système racinaire, au niveau morphologique et anatomique en lien avec la capacité à extraire l'eau et à la conduire vers les parties aériennes devrait être conduit sur différents génotypes. Il est également très important de mieux connaitre ce qui se passe au niveau du point de greffe. Il faut développer les mesures permettant de mieux évaluer ces propriétés hydrauliques comme la conductance et la capacitance hydraulique. La sensibilité des différents porte-greffes à l'embolie au niveau racinaire et leur capacité de récupération doit être évaluée. Ces informations seraient sans doute capitales pour mieux comprendre ce qui se passe réellement au vignoble en situation de contrainte hydrique. Ces caractères pourraient éventuellement être étudiés par des approches de génétique dans un objectif de sélection de nouveaux porte-greffes.

Au niveau transcriptomique, une analyse plus précise sur quelques génotypes au niveau foliaire dans des compartiments tissulaires particuliers tels que les cellules périvasculaires ou stomatique, mais aussi au niveau racinaire dans les différents tissus, comme décrit par Gambetta et al. (2013) permettrait sans doute de préciser les acteurs majeurs dans les processus de signalisation au niveau de ces tissus. Par exemple, un suivi au niveau transcriptomique ou protéique pour certaines aquaporines pourrait permettre de préciser pour différents génotypes le rôle précis de ces protéines membranaires dans les propriétés hydrauliques des racines et leur sensibilité à l'embolie.

Cependant connaissant les différences entre le niveau d'expression des aquaporines et l'activité de ces protéines, il parait nécessaire de mieux étudier leur présence effective, leur niveau de régulation et leur activité fonctionnelle. En effet nos travaux montrent que les génotypes diffèrent par les niveaux d'expression des gènes, mais la quantité et l'activité effectives des aquaporines n'a pas été vérifiée

Finalement certains composants moléculaires ont présenté un intérêt particulier dans notre étude. Il s'agit de de la protéine VviSnRK2.6, dont le rôle au niveau racinaire serait également à définir plus précisément. Une étude de la composante osmotique de la réponse à la contrainte hydrique sur les parties racinaires et foliaire sur les génotypes étudiés pourrait permettre de mettre de tester nos hypothèses sur le rôle de cette protéïne. Par ailleurs il serait important de préciser le rôle de VviPIP2.4. dans les différents compartiments de la plante. Au niveau foliaire, son lien avec le caractère iso-anisohydrique doit être vérifié. Au niveau racinaire semble être un marqueur des interactions greffon-porte-greffe (ou signalisation feuilles-racines). Une analyse plus détaillée de l'activité de cette protéine et de sa réponse à des stimuli environnementaux permettrait sans doute de compléter notre compréhension du fonctionnement d'une vigne greffée.

Références bibliographiques

Acharya BR, Jeon BW, Zhang W, Assmann SM. 2013. Open Stomata 1 (OST1) is limiting in abscisic acid responses of Arabidopsis guard cells. *New Phytologist* **200**, 1049–1063.

Agre P. 2004. Nobel Lecture. Aquaporin water channels. *Bioscience Reports* **24**, 127-163.

Albacete A, Martínez-Andújar C, Martínez-Pérez A, Thompson AJ, Dodd IC, Pérez-Alfocea F. 2015. Unravelling rootstock×scion interactions to improve food security. *Journal of Experimental Botany* **66**, 2211-2226.

Alexandersson E, Fraysse L, Sjövall-Larsen S, Gustavsson S, Fellert M, Karlsson M, Johanson U, Kjellbom P. 2005. Whole Gene Family Expression and Drought Stress Regulation of Aquaporins. *Plant Molecular Biology* **59**, 469-484.

Allario T, Brumos J, Colmenero-Flores JM, Iglesias DJ, Pina JA, Navarro L, Talon M, Ollitrault P, Morillon R. 2013. Tetraploid Rangpur lime rootstock increases drought tolerance via enhanced constitutive root abscisic acid production. *Plant, Cell and Environment* **36**, 856–868.

Allen RG, Pereira LS, Raes D, Smith M. 1998. Meteorological data. In: (FAO) FaAO, ed. *Crop evapotranspiration - Guidelines for computing crop water requirements*. Rome, Italy: United Nations, FAO.

Alleva K, Niemietz CM, Sutka M, Maurel C, Parisi M, Tyerman SD, Amodeo G. 2006. Plasma membrane of Beta vulgaris storage root shows high water channel activity regulated by cytoplasmic pH and a dual range of calcium concentrations. *Journal of Experimental Botany* **57**, 609-621.

Alleweldt G., Possingham JV. 1988: Progress in grapevine breeding. *Theorical Applied Genetic*. 75: 669-673.

Alsina MM, de Herralde F, Aranda X, Savé R, Biel C. 2007. Water relations and vulnerability to embolism are not related: experiments with eight grapevine cultivars. *Vitis* **46**, 1-6.

Alsina MM, Smart DR, Bauerle TL, de Herralde F, Biel C, Stockert C, Negron C, Save R. 2011. Seasonal changes of whole root syste conductance by a drought-tolerant grape root system. *Journal of Experimental Botany* **62**, 99-109.

Amigues JP, Debaeke P, Itier B, Lemaire G, Seguin G, Tardieu F, Thomas A. 2006. Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. In: INRA, ed. *Expertise scientifique collective, synthèse du rapport*: INRA (France), 72.

Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM. 2012. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany* **63**, 43-57.

Assmann SM. 2003. OPEN STOMATA1 opens the door to ABA signaling in Arabidopsis guard cells. *Trends in Plant Science* **8**, 151–153.

Atkinson CJ, Else MA, Taylor L, Dover CJ. 2003. Root and stem hydraulic conductivity as determinants of growth potential in grafted trees of apple (*Malus pumila* Mill.). *Journal of Exprimental Botany* **54**, 1221-1229.

Azad AK, Katsuhara M, Sawa Y, Ishikawa T, Shibata H. 2008. Characterization of Four Plasma Membrane Aquaporins in Tulip Petals: A Putative Homolog is Regulated by Phosphorylation. *Plant and Cell Physiology* **49**, 1196-1208.

Bacelar ELVA, Moutinho-Pereira JM, Gonçalves B, Brito CVQ, Gomes-Laranjo J, Ferreira HMF, Correia CM. 2013. Water use strategies of plants under drought conditions. In: Aroca R, ed. *Plant responses to drought stress*. Berlin: Springer-Verlag, 1-26.

Bansal A, Sankararamakrishnan R. 2007. Homology modeling of major intrinsic proteins in rice, maize and Arabidopsis: comparative analysis of transmembrane helix association and aromatic/arginine selectivity filters. *BMC Structural Biology* **7**, 27-27.

Barker CL, Donald T, Pauquet C. 2005. Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, Run1, using a bacterial artificial chromosome library. *Theoritical and Applied Genetics* **111**, 370-377.

Barrios-Masias FH, Knipfer T, McElrone AJ. 2015. Differential responses of grapevine rootstocks to water stress are associated with adjustments in fine root hydraulic physiology and suberization. *Journal of Experimental Botany*.

Bastian J. 2008. La vigne, le vin : atouts pour la France. *Rapports du comité économique et social*, Vol. 18, 105.

Bauerle T, Centinari M, Bauerle W. 2011. Shifts in xylem vessel diameter and embolisms in grafted apple trees of differing rootstock growth potential in response to drought. *Planta* **234**, 1045-1054.

Bauerle TL, Smart DR, Bauerle WL, Stockert C, Eissenstat DM. 2008. Root foraging in response to heterogenous soil moisture in two grapevines that differ in potentiel growth rate. *New Phytologist* **179**, 857-866.

Bavaresco L, Fregoni M, Perino A. 1994. Physiological aspects of lime-induced chlorosis in some Vitis species. I. Pot trial on calcareous soil. *Vitis* **33**, 123-126.

Beaudette PC, Chlup M, Yee J, Emery RJN. 2007. Relationships of root conductivity and aquaporin gene expression in Pisum sativum: diurnal patterns and the response to HgCl2 and ABA. *Journal of Experimental Botany* **58**, 1291-1300.

Beis A, Patakas A. 2010. Differences in stomatal responses and root to shoot signalling between two grapevine varieties subjected to drought. *Functional Plant Biology* **37**, 139–146.

Benabdellah K, Ruiz-Lozano J, Aroca R. 2009. Hydrogen peroxide effects on root hydraulic properties and plasma membrane aquaporin regulation in Phaseolus vulgaris. *Plant Molecular Biology* **70**, 647-661.

Berdeja M. 2013. Effects of water stress and rootstock genotype on grape berry composition, Bordeaux-Ségalen, Bordeaux, 173.

Besse M, Knipfer T, Miller AJ, Verdeil J-L, Jahn TP, Fricke W. 2011. Developmental pattern of aquaporin expression in barley (Hordeum vulgare L.) leaves. *Journal of Experimental Botany* **62**, 4127-4142.

Biela A, Grote K, Otto B, Hoth S, Hedrich R, Kaldenhoff R. 1999. The Nicotiana tabacum plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol. *The Plant Journal* **18**, 565-570.

Bienert GP, Chaumont F. 2014. Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **1840**, 1596-1604.

Blum A. 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research* **112**, 119-123.

Boneh U, Biton I, Schwartz A, Ben-Ari G. 2012*a*. Characterization of the ABA signal transduction pathway in *Vitis vinifera*. *Plant Science* **187**, 89–96.

Boneh U, Biton I, Zheng C, Schwartz A, Ben-Ari G. 2012*b*. Characterization of potential ABA receptors in Vitis vinifera. *Plant Cell Reports* **31**, 311–321.

Borel C, Audran C, Frey A, Marion- Poll A, Tardieu F, Simonneau T. 2001. *N. plumbaginifolia* zeaxanthin epoxidase transgenic lines have unaltered baseline ABA accumulations in roots and xylem sap, but contrasting sensitivities of ABA accumulation to water deficit. *Journal of Experimental Botany* **52**, 427-434.

Bota J, Flexas J, Medrano H. 2001. Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Annals of Applied Biology* **138**, 353-361.

Bouquet A. 1980. Vitis x Muscadinia hybridization: a new way in grape breeding for disease resistance in France. . In: UCAL, ed. *3rd International Symposium on Grape Breeding*. Davis, California, June 1980, 42-61.

Boursiac Y, Boudet J, Postaire O, Luu DT, Tournaire-Roux C, Maurel C. 2008. Stimulus-induced downregulation of root water transport involves reactive oxygen species-activated cell signalling and plasma membrane intrinsic protein internalization. *Plant Journal* **56**, 207-218.

Boursiac Y, Léran S, Corratgé-Faillie C, Gojon A, Krouk G, Lacombe B. 2013. ABA transport and transporters. *Trends in Plant Science* **18**, 325-333.

Boyer JS. 1974. Water transport in plants: mechanism of apparent changes in resistance during absorption. Planta **117**, 187–207.

Branas J, Vergne A. 1957. Morphologie du système radiculaire. *Le Progrès Agricole et Viticole*, 29-32.

Brisson N, Levrault F. 2010. *Changement climatique, agriculture et forêt en France: simulations d'impacts sur les principales expèces. Le Livre Vert du projet CLIMATOR (2007-2010).*

Brodersen C, McElrone A. 2013. Maintenance of xylem network transport capacity: a review of embolism repair in vascular plants. *Frontiers in Plant Science* **4**.

Brodersen CR, McElrone AJ, Choat B, Matthews MA, Shackel KA. 2010. The Dynamics of Embolism Repair in Xylem: In Vivo Visualizations Using High-Resolution Computed Tomography. *Plant Physiology* **154**, 1088-1095.

Cadle-Davidson, L. 2008. Variation within and between Vitis spp. for foliar resistance to the downy mildew pathogen Plasmopara viticola. *Plant Disease* 92: 1577–1584.

Canny MJ. 1993. The Transpiration Stream in the Leaf Apoplast: Water and Solutes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **341**, 87-100.

Carbonneau A. 1985. The early selection of grapevine rootstocks for resistance to drought conditions. *Am. J. Enol. Vitic.* **36**, 195-198.

Chan Z. 2012. Expression profiling of ABA pathway transcripts indicates crosstalk between abiotic and biotic stress responses in Arabidopsis. *Genomics* **100**, 110–115.

Chaumont F, Barrieu F, Wojcik E, Chrispeels MJ, Jung R. 2001. Aquaporins Constitute a Large and Highly Divergent Protein Family in Maize. *Plant Physiology* **125**, 1206-1215.

Chaumont F, Tyerman SD. 2014. Aquaporins: Highly Regulated Channels Controlling Plant Water Relations. *Plant Physiology* **164**, 1600-1618.

Chaves MM, Pereira JS, Maroco J. 2003. Understanding plant response to drought - from genes to the whole plant. . *Functional Plant Biology* **30**, 239-264.

Chaves MM, Santos TP, Souza CR, Ortuno MF, Rodrigues ML, Lopes CM, Maroco JP, Pereira JS. 2007. Deficit irrigation in grapevin improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology* **150**, 237-252.

Chaves MM, Zarrouk O, Francisco R, Costa JM, Santos T, Regalado AP, Rodrigues ML, Lopes CM. 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany* **105**, 661–676.

Chitarra W, Balestrini R, Vitali M, Pagliarani C, Perrone I, Schubert A, Lovisolo C. 2014. Gene expression in vessel-associated cells upon xylem embolism repair in Vitis vinifera L. petioles. *Planta* **239**, 887-899.

Choat B, Cobb AR, Jansen S. 2008. Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New Phytologist* **177**, 608-626.

Choat B, Drayton WM, Brodersen C, Matthews MA, Shackel KA, Wada H, McElrone AJ. 2010. Measurement of vulnerability to water stress-induced cavitation in grapevine: a comparison of four techniques applied to a long-vesseled species. *Plant, Cell & Environment* **33**, 1502-1512.

Choat B, Sack L, Holbrook NM. 2007. Diversity of hydraulic traits in nine Cordia species growing in tropical forests with contrasting precipitation. *New Phytologist* **175**, 686-698.

Choi W-G, Roberts DM. 2007. Arabidopsis NIP2;1, a Major Intrinsic Protein Transporter of Lactic Acid Induced by Anoxic Stress. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 24209-24218.

Christmann A, Grill E, Huang J. 2013. Hydraulic signals in long-distance signaling. *Current Opinion in Plant Biology* **16**, 293-300.

Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E. 2007. A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *The Plant Journal* **52**, 167-174.

Clearwater MJ, Blattmann P, Luo Z, Lowe RG. 2007. Control of scion vigour by kiwifruit rootstocks is correlated with spring root pressure phenology. *Journal of Experimental Botany* **58**, 1741-1751.

Cochard H, Cruiziat P, Tyree MT. 1992. Use of Positive Pressures to Establish Vulnerability Curves: Further Support for the Air-Seeding Hypothesis and Implications for Pressure-Volume Analysis. *Plant Physiology* **100**, 205-209.

Cochard H, Hölttä T, Herbette S, Delzon S, Mencuccini M. 2009. New Insights into the Mechanisms of Water-Stress-Induced Cavitation in Conifers. *Plant Physiology* **151**, 949-954.

Cochard H, Venisse J-S, Barigah TS, Brunel N, Herbette S, Guilliot A, Tyree MT, Sakr S. 2007. Putative Role of Aquaporins in Variable Hydraulic Conductance of Leaves in Response to Light. *Plant Physiology* **143**, 122-133.

Cohen S, Naor A, Bennink J, Grava A, Tyree M. 2007. Hydraulic resistance components of mature apple trees on rootstocks of different vigours. *Journal of Experimental Botany* **58**, 4213-4224.

Comas LH, Bauerle TL, Eissenstat DM. 2010. Root dynamics and function. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **doi: 10.1111/j.1755-0238.2009.00084x**.

Comstock JP. 2002. Hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **53**, 195-200.

Condon A, Richards D, Rebetzke GJ, Farquhar GD. 2004. Breeding for high water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany* **55**, 2447-2460.

Cordeau J. 1998. *Création d'un vignoble: greffage de la vigne et porte-greffes. Elimination des maladies à virus*. Bordeaux: Féret.

Coupel-Ledru A, Lebon É, Christophe A, Doligez A, Cabrera-Bosquet L, Péchier P, Hamard P, This P, Simonneau T. 2014. Genetic variation in a grapevine progeny (Vitis vinifera L. cvs Grenache×Syrah) reveals inconsistencies between maintenance of daytime leaf water potential and response of transpiration rate under drought. *Journal of Experimental Botany* **65**, 6205-6218.

Cramer GR, Ergül A, Grimplet J, Tillett RL, Tattersall EAR, Bohlman MC, Vincent D, Sonderegger J, Evans J, Osborne C, Quilici D, Schlauch KA, Schooley DA, Cushman JC. 2007. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Functional Integrative Genomics* **7**, 111-134

Cramer GR, Urano K, Delrot S, Pezzoti M, Shinozaki K. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a system biology perspective. *BMC Plant Biology* **11**, 163-177.

Cramer GR, Van Sluyter SC, Hopper DW, Pascovici D, Keighley T, Haynes PA. 2013. Proteomic analysis indicates massive changes in metabolism prior to the inhibition of growth and photosynthesis of grapevine (Vitis vinifera L.) in response to water deficit. *BMC Plant Biology* **13**, 49-49.

Cruiziat P, Ameglio T, Cochard H. 2001. La cavitation: un mécanisme perturbant la circulation de l'eau chez les végétaux. *Mécanique & Industries* **2**, 289-298.

Cruiziat P, Tyree M. 1990. La montée de la sève dans les plantes. *La Recherche* **21**, 406-414.

Dalal M, Chinnusamy V. 2015. ABA receptors: Prospects for enhancing biotic and abiotic stress tolerance of crops. In: Pandey GK, ed. Elucidation of Abiotic Stress Signaling in Plants. *Springer New York*, 271–298.

Dalal M, Inupakutika M. 2014. Transcriptional regulation of ABA core signaling component genes in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Molecular Breeding* **34**, 1517–1525.

Davies WJ, Tardieu F, Trejo CL. 1994. How do chemical signals work in plants that grow in drying soil ? *Plant Phsyiology* **104**, 309-314.

Davies WJ, Zhang J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soils. *Annual Review of Plant Physiology* **42**, 55-76.

De Andrès MT, Cabezas JA, Cervera MT, Borrego J, Martinez-Zapater JM, Jouve N. 2007. Molecular characterization of grapevine rootstocks maintained in germplasm collections. *American Journal Enology Viticulture* **58**, 75-86.

de Herralde F, del Mar Alsina M, Aranda X, Save R, Biel C. 2006. Effects of rootstocks and irrigation regime on hydraulic architecture of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **40**, 133-139.

Delrot S, Gambetta GA, Goutouly J-P. 2014. Effets du déficit hydrique sur les flux d'eau et la teneur en sucres dans les baies de raisin. *Innovations Agronomiques* **38**, 33-47.

Deluc LG, Quilici DR, Descendit A, Grimplet J, Wheatley MD, Schlauch KA, Merillon JM, Cushman JC, Cramer GR. 2009. Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonay. *BMC Genomics* **10**, 212.

Dodd IC, Egea G, Davies WJ. 2008. Accounting for sap flow from different parts of the root system improves the prediction of xylem ABA concentration in plants grown with heterogeneous soil moisture. *Journal of Experimental Botany* **59**, 4083-4093.

Dodd IC, Theobald JC, Richer SK, Davies WJ. 2009. Partial phenotypic reversion of ABA-deficient flacca tomato (Solanum lycopersicum) scions by a wild-type rootstock: normalizing shoot ethylene relations promotes leaf area but does not diminish whole plant transpiration rate

Dodd IC. 2005. Root-to-shoot signaling: Assessing the roles of 'up' in the up and down world of long-distance signaling in planta. *Plant and Soil* **274**, 251–270.

Dodd IC. 2013. Abscisic acid and stomatal closure: a hydraulic conductance conundrum? *New Phytologist* **197**, 6-8.

Domec J-C, Johnson DM. 2012. Does homeostasis or disturbance of homeostasis in minimum leaf water potential explain the isohydric versus anisohydric behavior of Vitis vinifera L. cultivars? *Tree Physiology* **32**, 245-248.

Domec JC, Scholz FG, Bucci SJ, Meinzer FC, Goldstein G, Villalobos-Vega R. 2006. Diurnal and seasonal variation in root xylem embolism in neotropical savanna woody species: impact on stomatal control of plant water status. *Plant, Cell & Environment* **29**, 26-35.

Duchêne E, Huard F, Pieri P. 2014. Grapevine and climate change: what adaptation of plant material and training systems should we anticipate ? *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **n° special Laccave**, 61-69.

Endo A, Sawada Y, Takahashi H, *et al.* 2008. Drought induction of Arabidopsis 9-cis-Epoxycarotenoid Dioxygenase occurs in vascular parenchyma cells. *Plant Physiology* **147**, 1984–1993.

Endo A, Okamoto M, Koshiba T. 2014. ABA Biosynthetic and Catabolic Pathways. In: Zhang D-P, ed. *Abscisic acid: Metabolism, Transport and Signaling*. Dordrecht: Springer Science+Business, 21-45.

Esmenjaud D, Van Ghelder C, Voisin R, Bordenave L, Decroocq S, Bouquet A, Ollat N. 2010. Host suitability of *Vitis* and *Vitis-Muscadinia* material to the nematode *Xiphinema index* on a 1- to 4-year duration. *American Journal of Enology and Viticulture* **61**, 96-101.

Ezzahouani A, Williams LE. 1995. The influence of rootstock on leaf water potential, yield, and berry composition of ruby seedless grapevines. *American Society for Enology and Viticulture* **46**, 559-563.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. 2009. Plant drought stress: effects, mechanims and management. *Agron. Sustain. Dev.* **29**, 185-212.

Ferrandino A, Lovisolo C. 2014. Abiotic stress effects on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Focus on abscisic acid-mediated consequences on secondary metabolism and berry quality. *Environmental and Experimental Botany* **103**, 138–147.

Fetter K, Van Wilder V, Moshelion M, Chaumont F. 2004. Interactions between plasma membrane aquaporins modulate their water channel activity. *Plant Celle* **16**, 215-218.

Finkelstein R. 2013. Abscisic acid synthesis and response. *The Arabidopsis Book*, e0166.

Flexas J, Bota J, Escalona JM, Sampol B, Medrano H. 2002. Effect of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions : an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology* **29**, 461-471.

Fouquet R, Léon C, Ollat N, Hamdi S, Barrieu F. 2008. Identification of grapevine aquaporin genes and expression analysis in grape berry. *Plant Cell Report* **10.1007/s00299-008-0566-1**.

Fouquet R. 2005. Les aquaporines de vigne: identification, études d'expression en conditions de contraintes abiotiques et approches de caractérisation fonctionnelle, Bordeaux I, Bordeaux, 113.

Franks PJ, Drake PL, Froend RH. 2007. Anisohydric but isohydrodynamic: seasonally constant plant water potential gradient explained by a stomatal control mechanism incorporating variable plant hydraulic conductance. *Plant, Cell & Environment* **30**, 19-30.

Franks PJ, Farquhar GD. 2007. The Mechanical Diversity of Stomata and Its Significance in Gas-Exchange Control. *Plant Physiology* **143**, 78-87.

Fregoni M, Scienza A, Miravalle R. 1977. Evaluation précoce de la résistance des porte-greffes à la secheresse. *In Proceedings of the IId Symposium of Genetics and Grape Breeding*. Bordeaux: INRA, 287–296.

Fujita Y, Fujita M, Satoh R, Maruyama K, Parvez MM, Seki M, Hiratsu K, Ohme-Takagi M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2005. AREB1 is a transcription activator of novel ABRE-dependent ABA signaling that enhances drought stress tolerance in Arabidopsis. *The Plant Cell* **17**, 3470–3488.

Galet P, 1990. Cépages et vignobles de France. L'Ampélo graphie française (Vol II), 2nd ed. Imp. Déhan, Montpellier.

Galet P. 1988. *Cépages et vignobles de France*.

Galet P. 1998. *Grape varieties and rootstock varieties*. Chaintré, France: Oenoplurimedia.

Galmés J, Pou A, Alsina MM, Tomàs M, Medrano H, Flexas J. 2007. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis* sp.): relationship with ecophysiological status. *Planta* **226**, 671-681.

Gambetta GA, Fei. J, Rost TL, Knipfer T, Matthews MA, Shackel K, Walker MA, McElrone AJ. 2013. Water uptake along the length of grapevine fine roots: developmental anatomy, tissue-specific aquaporin expression, and pathways of water transport. *Plant Physiology* **163**, 1254-1265.

Gambetta GA, Manuck CM, Drucker ST, Shaghasi T, Fort K, Matthews MA, Walker MA, McElrone AJ. 2012. The relationship between root hydraulics and scion vigour across *Vitis* rootstocks: what role do root aquaporins play? *Journal of Experimental Botany* **63**, 6445-6455.

Gambetta GA, Matthews MA, Shaghasi TH, McElrone AJ, Castellarin SD. 2010. Sugar and abscisic acid signaling orthologs are activated at the onset of ripening in grape. *Planta* **232**, 219–234.

Garcia de Cortazar Atauri I. 2006. Adaptation du modèle STICS à la vigne (*Vitis vinifera* L.). Utilisation dans le cadre d'une étude d'impact du changement climatique à l'échelle de la France, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier, 291.

Garcia M, Gallego P, Daverede C, Ibrahim H. 2001. Effect of three rootstocks on grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Negrette, grown hydroponically. I. Potassium, calcium and magnesium nutrition. *South African Journal for Enology and Viticulture* **22**, 101–103.

Gaudillère JP, Van Leeuwen C, Ollat N. 2002. Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status. *Journal of Experimental Botany* **53**, 757-763.

Gerbeau P, Amodeo G, T. H, Santoni V, Ripoche P, Maurel C. 2002. The water permeability of Arabidopsis plasma membrane is regulated by divalent cations and pH. *Plant Journal* **30**, 71-81.

Gerbeau P, Güçlü J, Ripoche P, Maurel C. 1999. Aquaporin Nt-TIPa can account for the high permeability of tobacco cell vacuolar membrane to small neutral solutes. *The Plant Journal* **18**, 577-587.

Gibberd MR, Walker RR, Blackmore DH, Condon A. 2001. Transpiration efficiency and carbon-isotope discrimination of grapevines grown under well-watered conditions in either glasshouse or vineyard. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **7**, 110-117.

Gomez-Del-Campo M, Baeza P, Ruiz C, Lissarrague JR. 2015. Water-stress induced physiological changes in leaves of four container-grown grapevine cultivars (Vitis vinifera L.). *Vitis* **43**, 99–105.

Gong H, Blackmore DH, Clingeleffer PR, Sykes S, Jha D, Tester M, Walker RR. 2011. Contrast in chloride exclusion between two grapevine gentoypes and its variation in theur hybrid progeny. *Journal of Experimental Botany* **62**, 989-999.

Gong H, Blackmore DH, Walker RR. 2010. Organic and inorganic anions in Shiraz and Chardonnay grape berries and wine as affected by rootstock under saline conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 227–236.

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 petiol phosphorus concentration. *American Journal of Enology and Viticulture* **47**, 217-224.

Grondin A, Rodrigues O, Verdoucq L, Merlot S, Leonhardt N, Maurel C. 2015. Aquaporins Contribute to ABA-Triggered Stomatal Closure through OST1-Mediated Phosphorylation. *The Plant Cell* **27**, 1945-1954.

Guenther JF, Chanmanivone N, Galetovic MP, Wallace IS, Cobb JA, Roberts DM. 2003. Phosphorylation of soybean Nodulin 26 on serine 262 enhances water permeability and is regulated developmentally and osmotic signals. *Plant Cell* **15**, 981-991.

Guilpart N, Metay A, Gary C. 2014. Grapevine bud fertility and number of berries per bunch are determined by water and nitrogen stress around flowering in the previous year. *European Journal of Agronomy* **54**, 9-20.

Hachez C, Veselov D, Ye Q, Reinhardt H, Knipfer T, Fricke W, Chaumont F. 2012. Short-term control of maize cell and root water permeability through plasma membrane aquaporin isoforms. *Plant, Cell & Environment* **35**, 185-198.

Harbertson JF, Keller M. 2012. Rootstock Effects on Deficit-Irrigated Winegrapes in a Dry Climate: Grape and Wine Composition. *American Journal of Enology and Viticulture* **63**, 40-48.

Hauser F, Waadt R, Schroeder Julian I. 2011. Evolution of Abscisic Acid Synthesis and Signaling Mechanisms. *Current Biology* **21**, R346-R355.

Heinen RB, Ye Q, Chaumont F. 2009. Role of aquaporins in leaf physiology. *Journal of Experimental Botany* **60**, 2971-2985.

Henderson SW, Baumann U, Backmore DH, Walker AM, Walker AM, Gilliham M. 2014. Shoot chloride exclusion and salt tolerance in grapevine is associated with differential ion transporter expression in roots. *BMC Plant Biology* **14**, 273-291.

Henzler T, Waterhouse RN, Smyth AJ, Carvajal M, Cooke DT, Schaffner AR, Steudle E, Clarkson DT. 1999. Diurnal variations in hydraulic conductivity and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of lotus japonicus. *Planta* **210**, 50-60.

Henzler T, Ye Q, Steudle E. 2004. Oxidative gating of water channels (aquaporins) in Chara by hydroxyl radicals. *Plant, Cell & Environment* **27**, 1184-1195.

Holbrook NM, Ahrens ET, Burns MJ, Zwieniecki MA. 2001. In Vivo Observation of Cavitation and Embolism Repair Using Magnetic Resonance Imaging. *Plant Physiology* **126**, 27-31.

Holbrook NM, Burns MJ, Field CB. 1995. Negative xylem pressure in plants: a test of the balancing pressure technique. *Science* **270**, 1193-1194.

Holbrook NM, Shashidhar VR, James RA, Munns R. 2002. Stomatal control in tomato with ABA-deficient roots : response of grafted plants to soil drying. *Journal of Experimental Botany* **53**, 1503-1514.

Holm L, Jahn T, Møller AB, Schjoerring J, Ferri D, Klaerke D, Zeuthen T. 2005. NH3 and NH 4 + permeability in aquaporin-expressing Xenopus oocytes. *Pflügers Archiv* **450**, 415-428.

Holzapfel BP, Treeby MT. 2007. Effects of timing and rate of N supply on leaf nitrogen status, grape yield and juice composition from Shiraz grapevines grafted to one of three different rootstocks. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**, 14-22.

Hopper DW, Ghan R, Cramer GR. 2014. A rapid dehydration leaf assay reveals stomatal response differences in grapevine genotypes. *Horticulture Research* **1**. doi:10.1038:hortres.2014.2.

Hose E, Steudle E, Hartung W. 2000. Abscisic acid and hydraulic conductivity of maize roots: a study using cell- and root-pressure probes. *Planta* **211**, 874-882.

Iacono F, Buccella A, Peterlunger E. 1998. Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Scientia Horticulturae* **75**, 27-39.

IFV. 2011. Le dépérissement de la Syrah, les dernières avancées. Bilan du programme interrégional. In: IFV, ed.

INSEE. 2013. Production et valeur ajoutée de l'agriculture en 2013.

IPCC. 2013. Climate change 2013 - The physical Science Basis - Summary for Polycimakers.

IPCC. 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. In: (eds.) RKPaLAM, ed. Geneva, Switzerland: IPCC, 151.

Ishikawa F, Suga S, Uemura T, Sato MH, Maeshima M. Novel type aquaporin SIPs are mainly localized to the ER membrane and show cell-specific expression in Arabidopsis thaliana. *FEBS Letters* **579**, 5814-5820.

Iuchi S, Kobayashi M, Taji T, Naramoto M, Seki M, Kato T, Tabata S, Kakubari Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2001. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Journal* **27**, 325-333.

Jang JY, Kim DG, Kim YO, Kim JS, Kang H. 2004. An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in Arabidopsis thaliana. *Plant Molecular Biology* **54**, 713-725.

Javot H, Maurel C. 2002. The Role of Aquaporins in Root Water Uptake. *Annals of Botany* **90**, 301-313.

Jiang F, Hartung W. 2008. Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal. *Journal of Experimental Botany* **59**, 37-43.

Jimenez S, Gogorcena Y, Hévin C, Rombolà A, Ollat N. 2007. Nitrogen nutrition influences Strategy I responses to iron deficiency in tolerant and sensitive genotypes of *Vitis*. *Plant and Soil* **290**, 343-355.

Johanson U, Karlsson M, Johansson I, Gustavsson S, Sjövall S, Fraysse L, Weig AR, Kjellbom P. 2001. The Complete Set of Genes Encoding Major Intrinsic Proteins in Arabidopsis Provides a Framework for a New Nomenclature for Major Intrinsic Proteins in Plants. *Plant Physiology* **126**, 1358-1369.

Johansson I, Karlsson M, Shukla VK, Chrispeels MJ, Larsson C, P. K. 1998. Water transport activity of the plasma membrane aquaporin PM28A is regulated by phosphorylation. *Plant Cell* **10**, 451-459.

Johnson DM, Woodruff DR, McCulloh KA, Meinzer FC. 2009. Leaf hydraulic conductance, measured in situ, declines and recovers daily: leaf hydraulics, water potential and stomatal conductance in four temperate and three tropical tree species. *Tree Physiology* **29**, 879-887.

Jones GV, White MA, Cooper OR, Storchmann K. 2005. Climate change and global wine quality. *Climate Change* **73**, 319-343.

Jones HG. 2012. How do rootstocks control shoot water relations. *New Phytologist* **194**, 301-303.

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* **doi:10.1111/j.1755-0238.2009.00061.x**.

Kang J, Hwang J-U, Lee M, Kim Y-Y, Assmann SM, Martinoia E, Lee Y. 2010. PDR-type ABC transporter mediates cellular uptake of the phytohormone abscisic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 2355-2360.

Keller M, Kummer M, Carmo Vasconcelos M. 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.

Keller M, Mills LJ, Harbertson JF. 2012. Rootstock Effects on Deficit-Irrigated Winegrapes in a Dry Climate: Vigor, Yield Formation, and Fruit Ripening. *American Journal of Enology and Viticulture* **63**, 29-39.

Keller M. 2010. *The science of grapevines - Anatomy and physiology*. San Diego: Academic Press - Elsevier.

Keller M. 2015. *The science of grapevines - Anatomy and physiology - 2de edition*. San Diego: Academic Press - Elsevier.

King SR, Davis AR, Zhang X, Crosby K. 2010. Genetics, breeding and selection of rootstocks for Solanaceae and Cucurbitaceae. Scientia horticulturae **127**, 106–111.

Kline KG, Barrett-Wilt GA, Sussman MR. 2010. In planta changes in protein phosphorylation induced by the plant hormone abscisic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 15986-15991.

Knipfer T, Besse M, Verdeil J-L, Fricke W. 2011. Aquaporin-facilitated water uptake in barley (Hordeum vulgare L.) roots. *Journal of Experimental Botany* **62**, 4115-4126.

Knipfer T, Eustis A, Brodersen C, Walker AM, McElrone AJ. 2015. Grapevine species from varied native habitats exhibit differences in embolism formation/repair associated with leaf gas exchange and root pressure. *Plant, Cell & Environment* **38**, 1503-1513.

Kodur S, Tisdall JM, Tang C, Walker RR. 2010. Accumulation of potassium in grapevine rootstocks (Vitis) as affected by dry matter partitioning, root traits and transpiration. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 273–282.

Koundouras S, Hatzidimitriou E, Karamolegkou M, Domipoulou E, Kallithraka S, Tsialtas J, Zioziou E, Nikolaou N, Kotseridis Y. 2009. Irrigation and Rootstock Effects on the Phenolic Concentration and Aroma Potential of Vitis vinifera L. cv. Cabernet Sauvignon Grapes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **57**, 7805-7813.

Koundouras S, Tsialtas J, Zioziou E, Nikolaou N. 2008. Rootstock effects on the adaptive strategies of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon) under contrasting water status: leaf physiological and structurak responses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **128**, 86-96.

Kubota C, McClure MA, Kokalis-Burelle N, Bausher MG, Rosskopf EN. 2008. Vegetable Grafting: History, Use, and Current Technology Status in North America. *HortScience* **43**, 1664-1669.

Kulik A, Wawer I, Krzywińska E, Bucholc M, Dobrowolska G. 2011. SnRK2 Protein Kinases—Key Regulators of Plant Response to Abiotic Stresses. *OMICS : a Journal of Integrative Biology* **15**, 859-872.

Kuromori T, Shinozaki K. 2010. ABA transport factors found in Arabidopsis ABC transporters. *Plant Signaling & Behavior* **5**, 1124-1126.

Kushiro T, Okamoto M, Nakabayashi K, Yamagishi K, Kitamura S, Asami T, Hirai N, Koshiba T, Kamiya Y, Nambara E. 2004. The Arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8′-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. *The EMBO Journal* **23**, 1647-1656.

Laucou V, Boursiquot JM, Lacombe T, Bordenave L, Decroocq S, Ollat N. 2008. Parentage of grapevine rootstock Fercal finally elucidated. *Vitis* **47**, 163-167.

Lauri P-É, Gorza O, Cochard H, Martinez S, Celton J-M, Ripetti V, Lartaud M, Bry X, Trottier C, Costes E. 2011. Genetic determinism of anatomical and hydraulic traits within an apple progeny. *Plant, Cell & Environment* **34**, 1276-1290.

Le A, S T, Je O, Kk T. 2011. Stomatal Responses to Drought Stress and Air Humidity. Shanker A, ed. Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations. InTech, .

Lecourt J, Lauvergeat V, Ollat N, Vivin P, Cookson SJ. 2015. Shoot and root ionome responses to nitrate supply in grafted grapevines are rootstock genotype dependent. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **doi: 10.1111/ajgw.12136**.

Lee KH, Piao HL, Kim H-Y, Choi SM, Jiang F, Hartung W, Hwang I, Kwak JM, Lee I-J, Hwang I. Activation of Glucosidase via Stress-Induced Polymerization Rapidly Increases Active Pools of Abscisic Acid. *Cell* **126**, 1109-1120.

Leung J, Merlot S, Giraudat J. 1997. The Arabidopsis ABSCISIC ACID-INSENSITIVE2 (ABI2) and ABI1 genes encode homologous protein phosphatases 2C involved in abscisic acid signal transduction. *The Plant Cell* **9**, 759–771.

Li G, Santoni V, Maurel C. 2014. Plant aquaporins: Roles in plant physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **1840**, 1574-1582.

Li, D., Wan, Y., Wang, Y., & He, P. 2008. Relatedness of resistance to anthracnose and to white rot in Chinese wild grapes. *Vitis*, 47(4), 213-215.

Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* **25**, 402–408.

Lopez F, Bousser A, Sissoëff I, Gaspar M, Lachaise B, Hoarau J, Mahé A. 2003. Diurnal Regulation of Water Transport and Aquaporin Gene Expression in Maize Roots: Contribution of PIP2 Proteins. *Plant and Cell Physiology* **44**, 1384-1395.

Loveys B, Kriedemann P. 1974. Internal control of stomatal physiology and photosynthesis. I. Stomatal regulation and associated changes in endogenous levels of abscisic and phaseic acids. *Functional Plant Biology* **1**, 407–415.

Lovisolo C, Hartung W, Schubert A. 2002. Whole-plant hydraulic conductance and root-to-shoot flow of abscisic acid are independently affected by water stress in grapevines. *Functional Plant Biology* **29**, 1349-1356.

Lovisolo C, Perrone I, Carra A, Ferrandino A, Flexas J, Medrano H, Schubert A. 2010. Drought-induced changes in development and function of grapevine (Vitis spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update. *Functional Plant Biology* **37**, 98-116

Lovisolo C, Perrone I, Hartung W, Schubert A. 2008a. An abscisic acid-related reduced transpiration promotes gradual embolism repair when grapevines are rehydrated after drought. *New Phytologist* **Compilation**, 1-10.

Lovisolo C, Schubert A. 2006. Mercury hinders recovery of shoot hydraulic conductivity during grapevine rehydration: evidence from a whole-plant approach. *New Phytologist* **172**, 469-478.

Lovisolo C, Tramontini S, Flexas J, Schubert A. 2008b. Mercurial inhibition of root hydraulic conductance in *Vitis* spp. rootstocks under water stress. *Environmental and Experimental Botany* **63**, 178-182.

Lovisolo C, Tramontini S. 2010. Methods for assessment of hydraulic conductance and embolism extent in grapevine organs. In: Delrot S, Gil HM, Or E, Bavaresco L, Grando MS, eds. *Methods and results in grapevine research*. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 71-85.

Lumba S, Toh S, Handfield LF, Swan M, Liu R, Youn LR, et al. 2014. A mesoscale abscisic acid hormone interactome reveals a dynamic signaling landscape in *Arabidopsis. Developmental cell* **29**, 360-372.

Ma JF, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M. 2006. A silicon transporter in rice. *Nature* **440**, 688-691.

Ma Y, Szostkiewicz I, Korte A, Moes D, Yang Y, Christmann A, Grill E. 2009. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science* **324**, 1064–1068.

Ma YY, Zhang YL, Shao H, Lu J. Differential physio-biochemical responses to cold stress of cold-tolerant and non-tolerant grapes (Vitis L.) from China. *J. Agron. Crop Sci.* **196**, 212-219.

Maherali H, Pockman WT, Jackson RB. 2004. Adaptative variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation *Ecology* **85**, 2184-2199.

Main G, Morris J, Striegler K. 2002. Rootstock effects on Chardonel productivity, fruit, and wine composition. *American Journal Enology and Viticulture* **53**, 37-40.

Malheiro AC, Santos JA, Fraga H, Pinto JG. 2010. Climate change scenarios applied to viticultural zoning in Europe. *Climate Research* **43**, 163-177.

Marguerit E, Brendel O, Lebon E, Van Leeuwen C, Ollat N. 2012. Rootstock control of scion transpiration and its acclimation to water deficit are controlled by different genes. *New Phytologist* **194** 416-429.

Marguerit E, Coupel-Ledru A, Barrieu F, Bert PF, Doligez A, Lebon E, This P, Simonneau T, Ollat N. 2014. Architecture génétique de réponses au déficit hydrique chez la vigne. In: INRA, ed. *Viticulture et stress hydrique - Carrefour de l'Innovation Agronomique*. Montpellier, 49-66.

Marguerit E. 2010. Déterminisme génétique des réponses au déficit hydrique de la transpiration et de la croissance induites par le porte-greffe, chez la vigne, Bordeaux, Bordeaux, 229.

Martorell S, Diaz-Espejo A, Tomàs M, Pou A, El Aoud-ouas H, Escalona JM, Vadell J, Ribas-Carbo M, Flexas J, Medrano H. 2015. Differences in water-use efficiency between two Vitis vinifera cultivars (Grenache and Tempranillo) explained by the combined response of stomata to hydraulic and chemical signals dureing water stress. *Agricultural Water Mangement* **156**, 1-9.

Matthews MA, Anderson MM. 1988. Fruit ripening in Vitis vinifera L.: Responses to seasonal water deficits. *American journal of Enology and Viticulture* **39**, 313-320.

Maurel C, Boursiac Y, Luu D-T, Santoni V, Shahzad Z, Verdoucq L. 2015. Aquaporins in Plants. *Physiological Reviews* **95**, 1321-1358.

Maurel C, Javot H, Lauvergeat V, Gerbeau P, Tournaire C, Santoni V, Heyes J. 2002. Molecular physiology of aquaporins in plants. *International Review of Cytology*, Vol. Volume 215: Academic Press, 105-148.

Maurel C, Kado RT, Guern J, Chrispeels MJ. 1995. Phosphorylation regulates the water channel activity of the seed-specific aquaporin alpha-TIP

Maurel C, Simonneau T, Sutka M. 2010. The significance of roots as hydraulic rheostats. *Journal of Experimental Botany* **61**, 3191-3198.

Maurel C, Verdoucq L, Luudt S, Santoni V. 2008. Plant aquaporins : membrane channels with multiple integrated functions. *Annu Rev Plant Biol* **59**, 595-562.

Mcadam SAM, Brodribb TJ. 2015. Hormonal dynamics contributes to divergence in seasonal stomatal behaviour in a monsoonal plant community. *Plant, Cell and Environment* **38**, 423–432.

McElrone AJ, Pockman WT, Martínez-Vilalta J, Jackson RB. 2004. Variation in xylem structure and function in stems and roots of trees to 20 m depth. *New Phytologist* **163**, 507-517.

Medrano H, Escalona JM, Cifre J, Bota J, Flexas J. 2003. A ten-year study on the physiology of two spanish grapevine cultivars under field conditions : effects of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. *Functional Plant Biology* **30**, 607-619.

Merdinoglu D, Wiedemann-Merdinoglu S, Coste P, Dumas V, Haetty S, Butterlin G, Greif C. 2003. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. *Acta Horticulturae* **603**, 451-456.

Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, Mittler R. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment* **33**, 453–467.

Morano LD, Walker AM. 1995. Soils and plant communities associated with three Vitis species. *American Midland Naturalist Journal* **134**, 254-263.

Mudge K, Janick J, Scofield S, Goldschmidt EE. 2009. A history of grafting. In: Janick J, ed. *Horticultural Reviews*, Vol. 35: Wiley J. and Sons, Inc, 437-493.

Mullins MG, Bouquet A, Williams LE. 1992. *Biology of the Grapevine*: Cambridge University Press.

Munns R, Cramer GR. 1996. Is coordination of leaf and root growth mediated by acid abscisic ? An opinion. *Plant and Soil* **185**, 33-49.

Nambara E, Marion-Poll A. 2005. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review of Plant Biology* **56**, 165–185.

Negi J, Matsuda O, Nagasawa T, Oba Y, Takahashi H, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Hashimoto M, Iba K. 2008. CO2 regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells. *Nature* **452**, 483-486.

Neill SJ, Horgan R, Heald JK. 1983. Determination of the levels of abscisic acid-glucose ester in plants. Planta **157**, 371–375.

Nicol JM, Stirling GR, Rose BJ, May P, Van Heeswijck R. 1999. Impact of nematodes on grpaevine growth and productivity: current knowledge and future directions, with special reference to Australian viticulture. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **5**, 109-127.

Nilson SE, Assmann SM. 2007. The Control of Transpiration. Insights from Arabidopsis. *Plant Physiology* **143**, 19-27.

OIV. 2015. World vitiviniculture situation. In: viticulture Osrow, ed. Paris, 15.

Okamoto M, Tanaka Y, Abrams SR, Kamiya Y, Seki M, Nambara E. 2009. High Humidity Induces Abscisic Acid 8′-Hydroxylase in Stomata and Vasculature to Regulate Local and Systemic Abscisic Acid Responses in Arabidopsis. *Plant Physiology* **149**, 825-834.

Ollat N, Bordenave L, Tandonnet JP, Marguerit E, Boursiquot JM. à paraitre. Grapevine rootstocks : Origins and perspectives. *Acta Horticulturae*.

Ollat N, Bordenave L. 2012. Varieties and rootstocks: an important mean for adaption to terroir. *IXe international congress of terroirs*. Dijon-Reims.

Ollat N, Peccoux A, Papura D, Esmenjaud D, Marguerit E, Tandonnet JP, Bordenave L, Cookson SJ, Barrieu F, Rossdeutsch L, Lecourt J, Lauvergeat V, Vivin P, Bert PF, Delrot S. 2016. Rootstocks as a component of adaptation to environment. In: Geros H, Chaves MM, Medrano H, Delrot S, eds. *Grapevine in a changing environment: a molecular and ecophysiological perspective, 1st Edition*: Wiley J. & sons, 68-108.

Ollat N, Tandonnet JP, Bordenave L, Decroocq S, Gény L, Gaudillère JP, Fouquet R, Barrieu F, Hamdi S. 2003. La vigueur conférée par le porte-greffe : hypothèses et pistes de recherches. *Bulletin de l'OIV* **869/870**, 581-595.

Ollat N, Touzard J. 2014. Long-term adaptation to climate change in viticulture and enology: the LACCAVE project. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **Spécial Laccave**, 1:7.

Ortega-Farias S, Fereres E, Sadras VO. 2012. Special issue on water management in grapevines. *Irrigation Science* **30**, 335-337.

Osakabe Y, Osakabe K, Shinozaki K, Tran LSP. 2014. Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science* **5**, 86, doi: 10.3389/fpls.2014.00086.

Pantin F, Monnet F, Jannaud D, Costa JM, Renaud J, Muller B, Simonneau T, Genty B. 2013. The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytologist* **197**, 65-72.

Paranychianakis NV, Aggelides S, Angelakis AN. 2004. Influence of rootstock, irrigation level ad recycle water on growth and yield of Soultanina grapevines. *Agricultural Water Management* **69**, 13-27.

Parent B, Hachez C, Redondo E, Simonneau T, Chaumont F, Tardieu F. 2009. Drought and Abscisic Acid Effects on Aquaporin Content Translate into Changes in Hydraulic Conductivity and Leaf Growth Rate: A Trans-Scale Approach. *Plant Physiology* **149**, 2000-2012.

Park SY, Fung P, Nishimura N, *et al.* 2009. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science* **324**, 1068–1071.

Passioura J, Munns R. 1984. Hydraulic Resistance of Plants. II. Effects of Rooting Medium, and Time of Day, in Barley and Lupin. *Functional Plant Biology* **11**, 341-350.

Peccoux A. 2011. Molecular and physiological characterization of grapevine rootstock adaptation to drought, Bordeaux-Ségalen, Bordeaux, 176.

Pérez-Pérez JG, Dodd IC. 2015. Sap fluxes from different parts of the rootzone modulate xylem ABA concentration during partial rootzone drying and re-wetting. *Journal of Experimental Botany* **66**, 2315–2324.

Perrone I, Gambino G, Chitarra W, Vitali M, Pagliarani C, Riccomagno N, Balestrini R, Kaldenhoff R, Uehlein N, Gribaudo I, Schubert A, Lovisolo C. 2012. The grapevine root-specific aquaporin VvPIP2;4N controls root hydraulic conductance and leaf gas exchange under well-watered conditions but not under water stress. *Plant Physiology* **160**, 965-977.

Peterlunger E. 1990. Conductivité hydraulique racinaire du porte-greffe. *Vignevini* **6**, 43-46.

Pilot G, Lacombe Bt, Gaymard F, Chérel I, Boucherez J, Thibaud J-B, Sentenac H. 2001. Guard Cell Inward K+ Channel Activity inArabidopsis Involves Expression of the Twin Channel Subunits KAT1 and KAT2. *Journal of Biological Chemistry* **276**, 3215-3221.

Pockman WT, Sperry JS, O'Leary MH. 1995. Sustained and significant negative pressure in xylem. *Nature* **378**, 715-716.

Pockman WT, Sperry JS. 2000. Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of Sonoran Desert vegetation. *American Journal of Botany* **87**, 1287-1299.

Pongracz DP. 1983. *Rootstocks for grape-vines*. Cape Town: David Philip.

Pou A, Medrano H, Flexas J, Tyerman SD. 2013. A putative role for TIP and PIP aquaporins in dynamics of leaf hydraulic and stomatal conductances in grapevine under water stress and re-watering. *Plant, Cell & Environment* **36**, 828-843.

Pou A, Medrano H, Tomàs M, Martorell S, Ribas Carbo M, Flexas J. 2012. Anisohydric beahviour in grapevines results in better performance under moderate water stress and recovery than isohydric behaviour. *Plant and Soil* **359**, 335-349.

Pouget R. 1990. Histoire de la lutte contre le phylloxera de la vigne. In: INRA, ed. Paris, 157.

Prado K, Boursiac Y, Tournaire-Roux C, Monneuse J-M, Postaire O, Da Ines O, Schäffner AR, Hem S, Santoni V, Maurel C. 2013. Regulation of Arabidopsis Leaf Hydraulics Involves Light-Dependent Phosphorylation of Aquaporins in Veins. *The Plant Cell* **25**, 1029-1039.

Prado K, Maurel C. 2013. Regulation of leaf hydraulics: from molecular to whole plant levels. *Frontiers in Plant Science* **4**.

Pratt C. 1974. Vegetative anatomy of cultivated grapes: a review. *American Journal of Viticulture and Enology* **25**, 131-150.

Priest DM, Ambrose SJ, Vaistij FE, Elias L, Higgins GS, Ross ARS, Abrams SR, Bowles DJ. 2006. Use of the glucosyltransferase UGT71B6 to disturb abscisic acid homeostasis in Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal* **46**, 492-502.

Prieto J, Lebon E, Ojeda H. 2010. Stomatal behavior of different grapevine cultivars in response to soil water status and air water vapor pressure deficit. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **44**, 9-20.

Qin X, Zeevaart JAD. 2002. Overexpression of a 9-cis-Epoxycarotenoid Dioxygenase gene in Nicotiana plumbaginifolia increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance. *Plant Physiology* **128**, 544–551.

Quigley F, Rosenberg J, Shachar-Hill Y, Bohnert H. 2001. From genome to function: the Arabidopsis aquaporins. *Genome Biology* **3**, research0001.0001 - research0001.0017.

Reid KE, Olsson N, Schlosser J, Peng F, Lund ST. 2006. An optimized grapevine RNA isolation procedure and statistical determination of reference genes for real-time RT-PCR during berry development. *BMC Plant Biology* **6**, 27.

Ren H, Gao Z, Chen L, Wei K, Liu J, Fan Y, Davies WJ, Jia W, Zhang J. 2007. Dynamic analysis of ABA accumulation in relation to the rate of ABA catabolism in maize tissues under water deficit. *Journal of Experimental Botany* **58**, 211–219.

Robertson FC, Skeffington AW, Gardner MJ, Webb AAR. 2009. Interactions between circadian and homonal signalling in plants. *Plant Molecular Biology* **69**, 419-427.

Rodríguez-Gamir J, Intrigliolo DS, Primo-Millo E, Forner-Giner MA. 2010. Relationships between xylem anatomy, root hydraulic conductivity, leaf/root ratio and transpiration in citrus trees on different rootstocks. *Physiologia Plantarum* **139**, 159-169.

Rogiers SY, Greer DH, Hatfield JM, Hutton RJ, Clarke SJ, Hutchinson PA, Somers A. 2012. Stomatal response of an anisohydric grapevine cultivar to evaporative demand, available soil moisture and abscisic acid. *Tree Physiology* **32**, 249-261.

Rosner S, Klein A, Wimmer R, Karlsson B. 2006. Extraction of features from ultrasound acoustic emissions: a tool to assess the hydraulic vulnerability of Norway spruce trunkwood? *The New phytologist* **171**, 105-116.

Rouphael Y, Schwarz D, Krumbein A, Colla G. 2010. Impact of grafting on product quality of fruit vegetables. Scientia Horticulturae **127**, 172–179.

Ruijter JM, Ramakers C, Hoogaars WMH, Karlen Y, Bakker O, van den Hoff MJB, Moorman AFM. 2009. Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Research* **37**, e45–e45.

Sack L, Holbrook NM. 2006. Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**, 361-381.

Sack L, Melcher PJ, Zwieniecki MA, Holbrook NM. 2002. The hydraulic conductance of the angiosperm leaf lamina: a comparison of three measurement methods. *Journal of Experimental Botany* **53**, 2177-2184.

Sade N, Vinocur BJ, Diber A, Shatil A, Ronen G, Nissan H, Wallach R, Karchi H, Moshelion M. 2009. Improving plant stress tolerance and yield production: is the tonoplast aquaporin SlTIP2;2 a key to isohydric to anisohydric conversion? *New Phytologist* **181**, 651-661.

Saito S, Hirai N, Matsumoto C, Ohigashi H, Ohta D, Sakata K, Mizutani M. 2004. Arabidopsis CYP707As Encode (+)-Abscisic Acid 8′-Hydroxylase, a Key Enzyme in the Oxidative Catabolism of Abscisic Acid. *Plant Physiology* **134**, 1439-1449.

Sakakibara H. 2006. CYTOKININS: Activity, Biosynthesis, and Translocation. *Annual Review of Plant Biology* **57**, 431-449.

Sakurai J, Ishikawa F, Yamaguchi T, Uemura M, Maeshima M. 2005. Identification of 33 Rice Aquaporin Genes and Analysis of Their Expression and Function. *Plant and Cell Physiology* **46**, 1568-1577.

Schachtman DP, Goodger JQD. 2008. Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends in Plant Science* **13**, 281–287.

Schultz HR, Matthews MA. 1988. Resistance to water transport in shoots of *Vitis vinifera* L. *Plant Physiology* **88**, 718-724.

Schultz HR. 1996. Water relations and photosynthetic responses of two grapevine cultivars of two different geographical origins during water stress. *Acta horticulturae* **427**, 251-266.

Schultz HR. 2000. Climate change and viticulture: a European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**, 1-12.

Schultz HR. 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell and Environment* **26**, 1393-1405.

Schwartz SH, Tan BC, McCarty DR, Welch W, Zeevaart JAD. 2003. Substrate specificity and kinetics for VP14, a carotenoid cleavage dioxygenase in the ABA biosynthetic pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **1619**, 9-14.

Scienza A, Fregoni M, Boselli M. 1980. Influence of rootstock on stomatal resistance, water potential and content of abscissic acid in Barbera. *Ricerca Viticola ed Enological* **1-2**, 39–44.

Scienza A. 1983. Adattamento genetico della vite allo stress idrico. *Tecnica Viticola ed Enologica* **6**, 27–39.

Seiler C, Harshavardhan VT, Reddy PS, *et al.* 2014. Abscisic acid flux alterations result in differential abscisic acid signaling responses and impact assimilation efficiency in barley under terminal drought stress. *Plant Physiology* **164**, 1677–1696.

Seo M, Koshiba T. 2011. Transport of ABA from the site of biosynthesis to the site of action. *Journal of Plant Research* **124**, 501-507.

Serra I, Strever A, Myburgh PA, Deloire A. 2014. Review: the interaction between rootstocks and cultivars (*Vitis vinifera* L.) to enhance drought tolerance in grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **20**, 1–14.

Shatil-Cohen A, Attia Z, Moshelion M. 2011. Bundle-sheath cell regulation of xylem-mesophyll water transport via aquaporins under drought stress: a target of xylem-borne ABA? *The Plant Journal* **67**, 72-80.

Shelden MC, Howitt SM, Brent NK, Tyerman SD. 2009. Identification and functional characterization of aquaporins in the grapevine. *Functional Plant Biology* **36**, 1065-1078.

Simonneau T, Barrieu P, Tardieu F. 1998. Accumulation rate of ABA in detached maize roots correlates with root water potential regardless of age and branching order. *Plant, Cell and Environment* **21**, 1113–1122.

Singh A, Jha SK, Bagri J, Pandey GK. 2015. ABA inducible rice protein phosphatase 2C confers ABA insensitivity and abiotic stress tolerance in Arabidopsis. *PLoS ONE* **10**, e0125168.

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, Charles Stuart University, Wagga Wagga, Australia, 196.

Soar CJ, Dry PR, Loveys BR. 2006a. 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.

Soar CJ, Speirs J, Maffei SM, Loveys BR. 2004. Gradients in stomatal conductance, xylem sap ABA and bulk leaf ABA along canes of Vitis vinifera cv. Shiraz : molecular and physiological studies investigating their sources. *Functinal Plant Biology* **31**, 659-669.

Soar CJ, Speirs J, Maffei SM, Penrose AB, McCarthy MG, Loveys BR. 2006b. Grapevine varieties Shiraz and Grenache differ in their stomatal response to VPD: apparent links with ABA physiology and gene expression in leaf tissue. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **12**, 2-12.

Sobeih WY, Dodd IC, Bacon MA, Grierson D, Davies WJ. 2004. Long-distance signals regulating stomatal conductance and leaf growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants subjected to partial root-zone drying. *Journal of Experimental Botany* **55**, 2353-2363.

Solari LI, Pernice F, Dejong TM. 2006. The relationship of hydraulic conductance to root system characteristics of peach (*Prunus persica)* rootstocks. *Physiologia Plantarum* **128**, 324-333.

Southey JM, Archer E. 1988. The effect of rootstock cultivar on grapevine root distribution and density. In: Van Zyl JL, ed. *The grapevine root and its environment*. Pretoria: Department of Agriculture and Water Supply, 57-73.

Speirs J, Binney A, Collins M, Edwards E, Loveys B. 2013. Expression of ABA synthesis and metabolism genes under different irrigation strategies and atmospheric VPDs is associated with stomatal conductance in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv Cabernet Sauvignon). *Journal of Experimental Botany* **64**, 1907–1916.

Sperry JS, Hacke UG, Wheeler JK. 2005. Comparative analysis of end wall resistivity in xylem conduits. *Plant, Cell & Environment* **28**, 456-465.

Sperry JS, Tyree MT. 1988. Mechanism of Water Stress-Induced Xylem Embolism. *Plant Physiology* **88**, 581-587.

Steudle E, Patterson CA. 1998. How does water get through roots ? *Journal of Experimental Botany* **49**, 775-788.

Steudle E. 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany* **51**, 1531-1542.

Stoll M, Loveys BR, Dry PR. 2000. Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. *Journal of Experimental Botany* **51**, 1627-1634.

Suga S, Komatsu S, Maeshima M. 2002. Aquaporin Isoforms Responsive to Salt and Water Stresses and Phytohormones in Radish Seedlings. *Plant and Cell Physiology* **43**, 1229-1237.

Sun L, Wang YP, Chen P, Ren J, Ji K, Li Q, Li P, Dai S-J, Leng P. 2011. Transcriptional regulation of SlPYL, SlPP2C, and SlSnRK2 gene families encoding ABA signal core components during tomato fruit development and drought stress. *Journal of Experimental Botany* **62**, 5659–5669.

Sutka M, Li G, Boudet J, Boursiac Y, Doumas P, Maurel C. 2011. Natural Variation of Root Hydraulics in Arabidopsis Grown in Normal and Salt-Stressed Conditions. *Plant Physiology* **155**, 1264-1276.

Takano J, Wada M, Ludewig U, Schaaf G, von Wirén N, Fujiwara T. 2006. The Arabidopsis Major Intrinsic Protein NIP5;1 Is Essential for Efficient Boron Uptake and Plant Development under Boron Limitation. *The Plant Cell* **18**, 1498-1509.

Takase T, Ishikawa H, Murakami H, Kikuchi J, Sato-Nara K, Suzuki H. 2011. The Circadian Clock Modulates Water Dynamics and Aquaporin Expression in Arabidopsis Roots. *Plant and Cell Physiology* **52**, 373-383.

Tandonnet JP, Cookson SJ, Vivin P, Ollat N. 2010. Scion control biomass allocation and root development in grafted grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 290-300.

Tardieu F, Parent B, Simonneau T. 2010. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? *Plant, Cell and Environment* **33**, 636–647.

Tardieu F, Simonneau T, Parent B. 2015. Modelling the coordination of the controls of stomatal aperture, transpiration, leaf growth, and abscisic acid: update and extension of the Tardieu–Davies model. *Journal of Experimental Botany* **66**, 2227-2237.

Tardieu F, Simonneau T. 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* **49**, 419–432.

Tardieu F, Tuberosa R. 2010. Dissection and modelling of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 206-212.

Tardieu F. 2003. Virtual plants: modelling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit. *Trends in Plant Science* **8**, 9-14.

Temmei Y, Uchida S, Hoshino D, Kanzawa N, Kuwahara M, Sasaki S, Tsuchiya T. Water channel activities of Mimosa pudica plasma membrane intrinsic proteins are regulated by direct interaction and phosphorylation. *FEBS Letters* **579**, 4417-4422.

This P, Lacombe T, Thomas MR. 2006. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics* **22**, 511-519.

Thompson AJ, Andrews J, Mulholland BJ, *et al.* 2007. Overproduction of abscisic acid in tomato increases transpiration efficiency and root hydraulic conductivity and influences leaf expansion. *Plant Physiology* **143**, 1905–1917.

Thompson AJ, Mulholland BJ, Jackson AC, McKee JMT, Hilton HW, Symonds RC, Sonneveld T, Burbidge A, Stevenson P, Taylor IB. 2007. Regulation and manipulation of ABA biosynthesis in roots. *Plant, Cell & Environment* **30**, 67-78.

Tibbetts TJ, Ewers FW. 2000. Root pressure and specific conductivity in temperate lianas: exotic Celastrus orbiculatus (Celastraceae) vs. native Vitis riparia (Vitaceae). *American Journal of Botany* **87**, 1272-1278.

Tomas M, Medrano H, Pou A, Escalona JM, Martorell S, Ribas-Carbo M, Flexas J. 2012. Water-use efficiency in grapevine cultivars grown under controlled conditions: effects of water stress at the leaf and whole-plant level. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **18**, 164-172.

Tombesi S, Nardini A, Frioni T, Soccolini M, Zadra C, Farinelli D, Poni S, Palliotti A. 2015. Stomatal closure is induced by hydraulic signals and maintained by ABA in drought-stressed grapevine. *Scientific Reports* **5**, 12449.

Tornroth-Horsefield S, Wang Y, Hedfalk K, Johanson U, Karlsson M, Tajkhorshid E, Neutze R, Kjellbom P. 2006. Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature* **439**, 688-694.

Tramontini S, Döring J, Vitali M, Ferrandino A, Stoll M, Lovisolo C. 2014. Soil water-holding capacity mediates hydraulic and hormonal signals of near-isohydric and near-anisohydric Vitis cultivars in potted grapevines. *Functional Plant Biology* **41**, 1119–1128.

Tramontini S, Lovisolo C. 2016. Embolism formation and removal in grapevines: a phenomenon affecting hydraulics and transpiration upon water stress. In: Geros HV, Chaves MM, Medrano H, Delrot S, eds. *Grapevine in a changing environment: a molecular and ecophysiological perspective, 1st Edition*: Wiley J. & sons, 135-147.

Tramontini S, Vitali M, Centioni L, Schubert A, Lovisolo C. 2013. Rootstock control of scion response to water stress in grapevine. *Environmental and Experimental Botany* **93**, 20-26.

Treeby MT, Holzapfel BP, Walker RR, Nicholas PR. 1998. Profiles of free amino acids in grapes of grafted Chardonnay grapevines. *Aust. J. Grape Wine Res.* **4**, 121-126.

Tsuda M, Tyree MT. 1997. Whole-plant hydraulic resistance and vulnerability segmentation in Acer saccharinum. *Tree Physiology* **17**, 351-357.

Tsuda M, Tyree MT. 2000. Plant hydraulic conductance measured by the high pressure flow meter in crop plants. *Journal of Experimental Botany* **51**, 823-828.

Tyerman SD, Vandeleur R, Shelden MC, Tilbrook J, Mayo G, Gilliham M, Kaiser BN. 2009. Water transport & Aquaporins in grapevine. In: Roubelakis-Angelakis KA, ed. *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*: Springer-Verlag.

Tyree M, Sperry JS. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Biology and Molecular Biology* **40**, 19-38.

Tyree MT, Nardini A, Salleo S, Sack L, El Omari B. 2005. The dependence of leaf hydraulic conductance on irradiance during HPFM measurements: any role for stomatal response? *Journal of Experimental Botany* **56**, 737-744.

Tyree MT, Patiño S, Bennink J, Alexander J. 1995. Dynamic measurements of roots hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field. *Journal of Experimental Botany* **46**, 83-94.

Uehlein N, Fileschi K, Eckert M, Bienert GP, Bertl A, Kaldenhoff R. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and plant aquaporin expression. *Phytochemistry* **68**, 122-129.

Umezawa T, Okamoto M, Kushiro T, Nambara E, Oono Y, Seki M, Kobayashi M, Koshiba T, Kamiya Y, Shinozaki K. 2006. CYP707A3, a major ABA 8′-hydroxylase involved in dehydration and rehydration response in Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal* **46**, 171-182.

Vahisalu T, Kollist H, Wang Y-F, Nishimura N, Chan W-Y, Valerio G, Lamminmaki A, Brosche M, Moldau H, Desikan R, Schroeder JI, Kangasjarvi J. 2008. SLAC1 is required for plant guard cell S-type anion channel function in stomatal signalling. *Nature* **452**, 487-491.

Vandeleur RK, Mayo G, Shelden MC, Gilliham M, Kaiser BN, Tyerman SD. 2009. The Role of Plasma Membrane Intrinsic Protein Aquaporins in Water Transport through Roots: Diurnal and Drought Stress Responses Reveal Different Strategies between Isohydric and Anisohydric Cultivars of Grapevine. *Plant Physiology* **149**, 445-460.

Vandeleur RK, Sullivan W, Athman A, Jordans C, Gilliham M, Kaiser BN, Tyerman SD. 2014. Rapid shoot-to-root signalling regulates root hydraulic conductance via aquaporins. *Plant, Cell & Environment* **37**, 520-538.

Verdoucq L, Rodrigues O, Martinière A, Luu DT, Maurel C. 2014. Plant aquaporins on the move: reversible phosphorylation, lateral motion and cycling. *Current Opinion in Plant Biology* **22**, 101-107.

Walker AR., Lee E., Bogs J., McDavid DA., Thomas MR. Robinson SP. 2007. White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes. Plant Journal. 49: 772-785.

Walker RR, Blackmore DH, Clingeleffer PR. 2010. Impact of rootstock on yield and ion concentrations in pétioles, juice and wine of Shiraz and Chardonnay in different viticultural environments with différent irrigation water salinity. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 243-257.

Wallace IS, Choi W-G, Roberts DM. 2006. The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1758**, 1165-1175.

Wallace IS, Roberts DM. 2004. Homology Modeling of Representative Subfamilies of Arabidopsis Major Intrinsic Proteins. Classification Based on the Aromatic/Arginine Selectivity Filter. *Plant Physiology* **135**, 1059-1068.

Wan X, Zwiazek JJ. 1999. Mercuric Chloride Effects on Root Water Transport in Aspen Seedlings. *Plant Physiology* **121**, 939-946.

Wan X, Zwiazek JJ. 2001. Root water flow and leaf stomatal conductance in aspen (*Populus tremuloides*) seedlings treated with abscisic acid. *Planta* **213**, 741-747.

Wan Y, Schwaniniger H, He P, Wang Y. 2007. Comparison of resistance to powdery mildew and downy mildew in Chinese wild grapes. *Vitis* **46**, 132-136.

Wheeler JK, Sperry JS, Hacke UG, Hoang N. 2005. Inter- vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselled plants: a basis for a safety versus efficiency trade- off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**, 800-812.

Whiting JR. 2005. Grapevine rootstocks. In: Dry PR, Coombe BG, eds. *Viticulture, volume I: Ressources*. Ashford, Australia: Winetitles Pty Ltd, 167-188.

Wiedemann-Merdinoglu S, Prado E, Coste P, Dumas V, Butterlin G, Bouquet A, Merdinoglu D. 2006. Genetic analysis of resistance to downy mildew from *Muscadinia rotundifolia*. *9th International Conference on Grape Genetics and Breeding*. Udine, Italy.

Wilkinson S, Davies WJ. 2002. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell & Environment* **25**, 195-210.

Willson CJ, Jackson RB. 2006. Xylem cavitation caused by drought and freezing stress in four co-occurring Juniperus species. *Physiologia Plantarum* **127**, 374-382.

Xue T, Wang D, Zhang S, Ehlting J, Ni F, Jakab S, Zheng C, Zhong Y. 2008. Genome-wide and expression analysis of protein phosphatase 2C in rice and Arabidopsis. *BMC Genomics* **9**, 550-571.

Yang B, Verkman AS. 1997. Water and Glycerol Permeabilities of Aquaporins 1–5 and MIP Determined Quantitatively by Expression of Epitope-tagged Constructs inXenopus Oocytes. *Journal of Biological Chemistry* **272**, 16140-16146.

Yoshida T, Fujita Y, Maruyama K, Mogami J, Todaka D, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2015. Four Arabidopsis AREB/ABF transcription factors function predominantly in gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic acid signalling in response to osmotic stress. *Plant, Cell and Environment* **38**, 35–49.

Young PR, Lashbrooke JG, Alexandersson E, Jacobson D, Moser C, Velasco R, Vivier MA. 2012. The genes and enzymes of the carotenoid metabolic pathway in Vitis vinifera L. *BMC Genomics* **13**, 243-260.

Yu DJ, Kim SJ, Lee HJ. 2009. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in field-grown grapevine cultivars. *Biologia Plantarum* **53**, 133–137.

Zah-Bi IC. 2014. Génomique comparative entre Muscadinia rotundifolia et Vitis vinifera pour faciliter l'identification de gènes de résistance. Ph-D, Evry-Val d'Essone, 272.

Zarrouk O, Garcia-Tejero I, Pinto C, Genebra T, Sabir F, Prista C, Soares David T, Loureiro-Dias MC, Chaves MM. 2015. Aquaporins isoforms in cv. Touriga Nacional grapevine under water stress and recovery - Regulation of expression in leaves and roots. *Agricultural Water Management*.

Zelazny E, Borst JW, Muylaert M, Batoko H, Hemminga MA, Chaumont F. 2007. FRET imaging in living maize cells reveals that plasma membrane aquaporins interact to regulate their subcellular localization. *Proc Natl Acad Sci U S A* **30**, 12359-12364.

Zhang XL, Jiang L, Xin Q, Liu Y, Tan JX, Chen ZZ. 2015. Structural basis and functions of abscisic acid receptors PYLs. *Frontiers in Plant Science* **6**, 88-104.

Zhang Y, Oren R, Kang S. 2012. Spatiotemporal variation of crown-scale stomatal conductance in an arid *Vitis vinifera* L. cv. Merlot vineyard: direct effects of hydraulic properties and indirect effects of canopy leaf area. *Tree Physiology* **32**, 262-279.

Zheng C, Halaly T, Acheampong AK, Takebayashi Y, Jikumaru Y, Kamiya Y, Or E. 2015. Abscisic acid (ABA) regulates grape bud dormancy, and dormancy release stimuli may act through modification of ABA metabolism. *Journal of Experimental Botany* **66**, 1527–1542.

Zimmermann MH, Brown CL. 1971. *Trees structure and function*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.

Zimmermann MH. 1978. Hydraulic architecture of some diffuse porous trees. *Canadian Journal of Botany* **56**, 2286-2295.

Zimmermann MH. 1983. *Xylem structure and ascent of sap*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.

Zufferey V, Cochard H, Ameglio T, Spring J-L, Viret O. 2011. Diurnal cycles of embolism formation and repair in petioles of grapevine (Vitis vinifera cv. Chasselas). *Journal of Experimental Botany* **62**, 3885-3894.