

Vigueur de croissance et compartimentation ionique comme critères de sélection et indicateurs de tolérance à la salinité chez les porte-greffes de vigne

M. HANANA^{1*}, L. HAMROUNI², K. BEN HAMED³, C. ABDELLY³

¹ Laboratoire de Physiologie Moléculaire des Plantes, Centre de Biotechnologie de Borj-Cédria, BP 901, Hammam-lif 2050, Tunisie.

² Laboratoire d'Ecologie Forestière, Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, P.B. 10, 2080 Ariana, Tunisie.

³ Laboratoire des Plantes Extrémophiles, Centre de Biotechnologie de Borj-Cédria, BP 901, Hammam-lif 2050, Tunisie.

* Corresponding author: punto80@yahoo.com

Abstract - In order to select and identify grapevine rootstocks adapted to environmental constraints, particularly salinity, we analyzed and evaluated, in a preliminary attempt, the response of four grapevine rootstocks: 110 Richter, 1103 Paulsen, SO₄ and 140 Ruggeri, provided from field collection and cultivated under salt treatment (100 mM NaCl). After 75 days of treatment, measures were realized on the agronomical characters related to plant growth, photosynthetic capacity and physiological parameters related to plant mineral content. The obtained results show salt tolerant rootstock is tightly related to its vigor, and on its ability to maintain the photosynthetic activity despite of the stress and its capacity to accumulate and store the sodium in the upper part of the plant (particularly old leaves). Chloride exclusion with restriction to its entry and uptake, osmotic adjustment via leaf potassium accumulation (~1200 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS for salt tolerant 140R rootstock), salt stress signalization and cellular protection of components through leaf calcium accumulation (~1200 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS for 140R) represent additional mechanisms of salt tolerance.

Keywords : Grapevine, Rootstocks, Salt stress, Ion distribution, Sodium, Chloride.

Résumé - Afin de sélectionner et d'identifier des porte-greffes de vigne adaptés aux contraintes de l'environnement, particulièrement la salinité, nous avons dans un premier temps cherché à définir et évaluer la réponse de 4 porte-greffes : 110 Richter, 1103 Paulsen, SO₄ et 140 Ruggeri, issus d'une collection au champ et cultivés sous traitement salin (100 mM NaCl). Au terme de 75 jours de traitement, les mesures ont porté sur les caractères agronomiques liés à la croissance, la capacité photosynthétique de la plante et les paramètres physiologiques relatifs à la nutrition minérale. Les résultats obtenus montrent que la tolérance à la salinité des porte-greffes est étroitement liée à leur vigueur initiale et que les mécanismes physiologiques de tolérance reposent sur leur aptitude à maintenir l'activité photosynthétique malgré le stress et leur capacité d'accumulation et de stockage du sodium au niveau de la partie aérienne (particulièrement au niveau des feuilles âgées). L'exclusion des chlorures, tout en restreignant leur accumulation, l'ajustement osmotique, via l'accumulation foliaire de potassium, ainsi que la signalisation du stress et la protection des composés cellulaires à travers le calcium foliaire, sont des mécanismes de tolérance additionnels. L'ajustement osmotique, *via* l'accumulation foliaire de potassium (~1200 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS chez le porte-greffe tolérant 140R), ainsi que la signalisation du stress et la protection des composés cellulaires à travers le calcium foliaire (~2000 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MS chez 140R), sont des mécanismes de tolérance additionnels.

Mots clés: Grapevine, Rootstocks, Salt stress, Ion distribution, Sodium, Chloride.



1. Introduction

La vigne figure parmi les plantes les plus cultivées dans le monde avec approximativement 7.5 millions d'hectares de superficie cultivée et 69.1 millions de tonnes de raisin produites en 2012. L'utilisation de porte-greffe chez la vigne a commencé à devenir une pratique courante à partir des années 1880 afin de pallier l'épidémie dévastatrice du phylloxera, *Phylloxera vitifoliae* (Fitch). Actuellement, la plupart des viticulteurs dans le monde appliquent et tirent profit de la technique de greffage, dans laquelle le greffon est généralement un cultivar *Vitis vinifera* alors que le porte-greffe peut être soit une vigne nord-américaine soit un hybride interspécifique. La principale raison de l'utilisation des porte-greffes réside dans leur résistance aux maladies particulièrement le phylloxera et les nématodes. Plusieurs travaux ont par ailleurs fait ressortir l'effet du porte-greffe sur la croissance de la vigne, le rendement et la qualité du raisin. Ces effets sont tributaires également d'un environnement favorable, or malheureusement, les facteurs environnementaux se font de plus en plus contraignants, particulièrement la salinité qui constitue un des plus graves problèmes pour l'agriculture dans plusieurs régions dans le monde (Blumwald 2000). Les viticulteurs orientent et conditionnent le choix du porte-greffe pour leur vignoble principalement en fonction de sa vigueur et de sa résistance aux maladies, particulièrement le phylloxera et les nématodes, sur la base du postulat que le porte-greffe confère ses propriétés au greffon. En pratique, cela n'est pas aussi simple pour certains caractères comme l'adaptation aux stress abiotiques telle que la salinité. En Tunisie, les porte-greffes les plus courants sont le SO₄ et le 1103 Paulsen (1103P). Ils ont été introduits par les colons français depuis le début du 20^{ème} siècle principalement en raison de leur résistance au Phylloxéra et de leur bonne vigueur, sans trop accorder d'importance à leur efficacité face aux conditions pédoclimatiques locales. Le porte-greffe 1103 Paulsen, réputé pour sa grande vigueur et son bon comportement dans les sols argilo-calcaires à sous-sols frais et humides, a été particulièrement utilisé dans les sols salés. Il possède une bonne résistance au calcaire actif (jusqu'à 35 % de calcaire actif) mais est également résistant aux nématodes endoparasites. Le SO₄, bien qu'affichant une faible tolérance au calcaire (17 à 18 % de calcaire actif), résiste bien aux nématodes endoparasites *Méloidogyne arenaria* et *M. incognita*. Il semble ainsi que lors de leur introduction dans les vignobles, le comportement et les aptitudes des porte-greffes face aux contraintes abiotiques du milieu n'ont pas fait l'objet d'aucune considération et demeurent le plus souvent une caractéristique vague ou inconnue. Malheureusement, il est constaté qu'au niveau des principales régions viticoles, la salinité des sols et des eaux d'irrigation s'accroît de façon frénétique et inquiétante. La présente étude s'inscrit dans le cadre de recherche et de sélection de porte-greffe tolérant la salinité. Nous avons par conséquent procédé à l'évaluation du comportement et du degré de tolérance de différents porte-greffes face à la salinité. Notre approche vise à analyser la valeur et le comportement intrinsèque des porte-greffes face à la salinité, en ce sens qu'ils seront étudiés de manière isolée, en dehors de leur interaction avec les greffons ou scions. Dans ce cadre, 4 porte-greffes, SO₄, 140 Ruggeri, 1103 Paulsen, et 110 Richter ont été choisis afin d'être analysés pour leur tolérance à la salinité dans le but d'identifier un génotype intéressant pouvant s'adapter aux conditions de stress salin mais aussi de comprendre les mécanismes physiologiques impliqués dans l'adaptation à la contrainte saline.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal et conduite de culture

L'étude a porté sur 4 porte-greffes: 110R (*V. berlandieri* x *V. rupestris*), 140R (*V. berlandieri* x *V. rupestris*), 1103P (*V. berlandieri* x *V. rupestris*) et SO₄ (*V. berlandieri* x *V. riparia*). Les boutures sont trempées à leur base dans de l'exubérone (AIB commercial, 4000 ppm) afin de favoriser la rhizogenèse, puis paraffinées et repiquées dans des cagettes remplies de sable qui sont ensuite mises dans une chambre climatique (température 28 °C, photopériode 16/8 heures, éclairage 350 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, et humidité relative 80 %). Au bout de deux semaines, les boutures commencent à débourrer et développer leur système racinaire. Après enracinement des boutures, les jeunes plants ont été repiqués individuellement dans des pots en plastique de 2 litres contenant du sable inerte lavé avec de l'acide sulfurique concentré et rincés plusieurs fois avec de l'eau distillée. Après une période d'acclimatation de deux semaines, les boutures enracinées sont irriguées avec une solution nutritive enrichie en NaCl (100 mM). L'essai sous serre a duré 75 jours. Les cultures sont conduites dans une serre vitrée sous éclairage naturel mais avec un éclairage d'appoint. La température moyenne et l'humidité relative sont respectivement de 25 ± 2 °C et 70 ± 5 % et sous une photopériode de 16 heures.

2.2. Traitement salin

Les irrigations sont réalisées tous les 2 jours à l'aide d'une solution nutritive. Deux semaines après le repiquage des boutures enracinées, le traitement salin est appliqué progressivement en ajoutant 25 mM NaCl

tous les 15 jours jusqu'à atteindre 100 mM. Les volumes de solution nutritive apportés sont calculés à 70 % de la capacité au champ et sont suffisants pour provoquer un léger drainage et lessivage.

2.3. Paramètres analysés

2.3.1. Mesure de la production de biomasse

Après 2 mois de culture, à la récolte, les plantes sont séparées en parties aériennes (feuilles et tiges) et en racines. Les racines sont rincées dans trois bains successifs d'eau glacée puis éponnées et séchées avec du papier filtre. Les différents organes sont rapidement mis dans des sachets en papier aluminium préalablement tarés puis pesés avant et après dessiccation à 60 °C pendant 48 heures pour en déterminer les masses en matières fraîche et sèche. La teneur en eau est déterminée par la différence entre la matière fraîche (MF) et la matière sèche (MS), ramenée à cette dernière.

2.3.2. Evaluation de la surface foliaire et du nombre de feuilles

La surface foliaire est déterminée uniquement pour quatre feuilles prélevées de façon aléatoire à chaque niveau de la plante (basal, médian et apical), à l'aide d'un planimètre (Area Meter, type LI-3000A, LI-COR).

2.3.3. Détermination de la teneur en chlorophylle

La détermination des teneurs en chlorophylle est réalisée sur des feuilles fraîches prélevées sur les plants à la récolte finale.

2.3.4. Détermination de la nutrition minérale

Afin d'analyser le comportement de transport et de stockage des ions au niveau de la plante, nous avons déterminé les concentrations des ions minéraux (sodium, chlore, potassium, calcium et magnésium) au niveau des différents organes (racines, tiges et feuilles).

2.4. Méthodologie

2.4.1. Indice de sensibilité

Il est déterminé selon la formule suivante:

$$IS = 100 \times (\Delta MS_{NaCl} - \Delta MS_{\text{témoin}}) / \Delta MS_{\text{témoin}}$$

ΔMS_{NaCl} : variation de la production de la matière sèche sur milieu salé.

$\Delta MS_{\text{témoin}}$: variation de la production de la matière sèche sur milieu témoin.

2.4.2. Détermination de la teneur en chlorophylle

Les feuilles fraîchement récoltées sont imbibées avec de l'acétone (100 %) refroidi et broyées à l'aide d'un polytron puis l'ensemble est centrifugé à 3000 tours/mn pendant 10 minutes. Le surnageant est stocké dans le congélateur. Quant au culot, on lui ajoute de l'acétone (80 %) refroidi pour être mixé de nouveau puis centrifugé une deuxième fois dans les mêmes conditions que précédemment. Le surnageant ainsi obtenu est mélangé avec le premier afin de déterminer le volume d'acétone ayant servi pour l'extraction. Pour la détermination de la teneur en chlorophylle, 1 ml du surnageant est ajouté à 9 ml d'acétone à 80 %. Le mélange est introduit dans le spectrophotomètre pour être observé à une longueur d'onde égale à 652 nm. L'évaluation de la teneur en chlorophylle se fait selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en chlorophylle totale (mg.g}^{-1}\text{)} = \text{vol d'acétone (ml)} \times \text{valeur de la lecture} \times 10 / \text{poids de l'extrait sec (g)}$$

2.4.3. Analyse minérale

Extraction des ions

Après dessiccation, les échantillons (feuilles, tiges et racines) sont réduits en poudre fine au moyen d'un broyeur à billes (type Danguomeau). Le broyage assure une homogénéité des échantillons qui feront l'objet des différentes analyses. Des quantités connues de poudre végétale préalablement desséchée à l'étuve sont mises dans les piluliers en présence d'un volume connu d'acide nitrique 0.5 %. Le rapport matière sèche / volume est de 20 mg de MS pour 50 ml d'acide. Les piluliers hermétiquement fermés pour éviter la concentration des extraits par évaporation sont agités périodiquement 4 à 5 fois par jour. Les extraits sont ensuite filtrés sur papier filtre sans cendre et donc prêts pour le dosage des éléments minéraux.

Dosage des cations

Les cations K^+ , Ca^{2+} , Na^+ et Mg^{2+} sont dosés par absorption atomique (Perkin Elmer Atomic absorption spectrometer 3110).

Dosage du chlorure

Le Cl^- est dosé sur les mêmes extraits nitriques, en présence d'un tampon acétique (acide acétique 10 %, acide nitrique 0.1 N) et de gélatine, à l'aide d'un chloridomètre digital (type Haake Büchler) selon le principe de titration colorimétrique avec détection de fin de réaction potentiométrique. Des aliquots de 10 μl d'une solution étalon à 100 meq.l⁻¹ sont utilisés pour l'étalonnage de l'appareil. A 0.5 ml de chaque extrait de l'échantillon on ajoute 2.5 ml d'acide nitrique 0.1 N, 1 ml de tampon acétique et 4 gouttes de la solution de gélatine.

2.4.4. Sélectivité K^+/Na^+

Les plantes absorbent puis transportent dans leurs parties aériennes une certaine quantité de potassium indispensable à la croissance. Etant donné l'excès de sodium par rapport au potassium dans le milieu, les plantes doivent maintenir une sélectivité K^+/Na^+ au niveau de leur système d'absorption, de transport et d'accumulation. La sélectivité est alors définie par la formule suivante :

$$SK^+/Na^+ = S1 / S2$$

$$S1 = \Delta QK / (\Delta QK + \Delta QNa)$$

$$S2 = [K^+] / ([K^+] + [Na^+])$$

ΔQ : quantité de l'élément accumulée dans la partie de la plante au cours de la période du traitement exprimée en meq.

[---] : concentration de l'élément dans le milieu de culture exprimée en meq/ml.

De façon plus simplifiée, elle peut être aussi appréciée par le rapport (des quantités) K/Na .

2.5. Analyses statistiques

Le programme « Statistical Analysis System » a été utilisé pour réaliser toutes les analyses de la variance ainsi que le test de Duncan ($\alpha = 0.05$) afin de comparer les moyennes entre l'échantillon témoin et l'échantillon traité pour chaque paramètre analysé.

3. Résultats et discussion

3.1. Effet du NaCl sur l'aspect des plantes

Après un mois de traitement salin (100 mM NaCl), les plants deviennent chétifs, diminuent en croissance et perdent leurs feuilles progressivement. L'ampleur de ces symptômes est variable selon les porte-greffes. Au niveau du 110 Richter, le sel réduit uniquement l'allongement des rameaux et la formation de nouvelles feuilles. Par contre, chez le SO₄, le traitement salin possède un effet plus drastique et conduit à la sénescence puis à la chute des feuilles basales (les feuilles qui tombent sont nécrosées et desséchées alors que le pétiole est toujours vert). En effet, celles-ci sont les premières affectées par le sel qui semble migrer de manière relativement lente vers la partie apicale (Blumwald 2000). Au terme d'un mois de traitement salin et au niveau de certaines feuilles âgées, des nécroses apparaissent de l'extrémité du limbe se dirigeant vers les nervures ou sous forme de plages nécrotiques éparpillées.

3.2. Effets du NaCl sur la croissance des plantes

3.2.1. Effet sur la production de biomasse

Matière sèche

La vigueur est le signe d'une intensité de métabolisme et s'exprime par une vitesse de croissance élevée des rameaux (en longueur et en diamètre) et par une fertilité accrue des bourgeons, ce qui se traduit par une allocation élevée d'assimilats à la partie aérienne (Ollat et al. 2003). Ainsi, l'expression végétative peut être évaluée par la quantité totale de matière sèche accumulée dans les parties végétatives de la plante (racines, tronc, rameaux, feuilles), et la vigueur est définie comme cette quantité divisée par le nombre de rameaux (poids moyen des sarments). Nous considérons dans nos travaux que la vigueur d'un génotype est définie, de manière simplifiée, par sa production de matière sèche. Le suivi et l'analyse de la croissance des plantes montrent que les porte-greffes présentent des vigueurs différentes lorsqu'ils sont cultivés en condition témoin. Les potentialités spécifiques de croissance et les vigueurs initiales ne sont donc pas les mêmes et varient selon les porte-greffes. En effet, 140 Ruggeri est le plus vigoureux en produisant 35 g de MS par plante (après un

mois de culture), alors que le SO₄, porte-greffe le moins vigoureux, ne parvient à produire que 12 g (tableau 1). Ainsi, le 140R est capable de produire le triple de la MS de SO₄ (tableau 1). Cette tendance est encore plus accentuée au niveau de la production de matière sèche racinaire. D'après nos résultats, l'effet de la salinité est variable selon les porte-greffes. Pour le 140 Ruggeri, l'application de 100 mM NaCl durant un mois n'engendre aucun effet significatif sur la quantité de matière sèche produite (par plante), même si une légère baisse est enregistrée (tableau 1). Par contre, une nette réduction de la production de matière sèche est observée chez les 3 autres porte-greffes testés. Cette diminution varie considérablement et peut atteindre 89 % du témoin, notamment chez le SO₄ qui subit une chute vertigineuse de la matière sèche en produisant 9 fois moins de matière sèche que le témoin (tableau 1). D'autre part, le 140 Ruggeri, traité par le NaCl, parvient à produire autant de MS que le 110R et plus que le 1103P et le SO₄ non traités, reflétant ainsi sa supériorité de vigueur et d'adaptation au sel. Le 140R est le seul porte-greffe dont la partie aérienne n'est pas affectée par le traitement salin, malgré une faible diminution non significative de sa MS aérienne. Chez la vigne, la réduction de croissance sous contrainte saline a été largement décrite (Downton 1977a et b, 1985, Walker et al. 2003). Celle-ci serait liée à des perturbations de concentrations des régulateurs de croissance (acide abscissique et cytokinines) induites par le sel, mais aussi à une réduction de la capacité photosynthétique suite à une diminution de la conductance stomatique du CO₂ sous la contrainte saline. En considérant la partie racinaire seulement (tableau 1), le stress salin exerce un effet remarquable et significatif sur tous les porte-greffes y compris le 140R, démontrant ainsi la sensibilité particulière de cette partie de la plante, et surtout l'impact que cela pourrait engendrer sur le rôle de porte-greffe par la suite. Afin de déterminer le degré de tolérance/sensibilité de chacun de ces porte-greffes nous avons étudié la quantité de matière sèche produite du plant stressé en pourcentage du témoin. Cette analyse fait ressortir que le porte-greffe 140 Ruggeri maintient plus de 80 % de la production de MS par rapport à son témoin alors que les autres porte-greffes voient leur production de MS réduite de 50 à 89 % par rapport à leurs témoins respectifs. L'évolution de la matière sèche racinaire des plants témoins et stressés confirme ce précédent résultat, et met en valeur l'importance de la vigueur spécifique du génotype sur le comportement de la plante face à la salinité. Il semble aussi que la partie racinaire soit affectée en premier lieu car en analysant la MS de la plante entière (ou aérienne uniquement), il n'y a pas d'effet significatif du sel sur le porte-greffe tolérant mais seulement sur les sensibles, alors que le NaCl affecte la croissance racinaire chez tous les porte-greffes, tolérants ou sensibles. La croissance racinaire est beaucoup plus touchée chez les porte-greffes sensibles. En effet, les croissances racinaires de 1103P et de SO₄ ne dépassent pas 25 et 15 % de la croissance de leurs témoins respectifs. Ainsi, chez les porte-greffes, la plante semble s'adapter au stress salin en réduisant en premier lieu son système racinaire afin de préserver la croissance aérienne qui devra maintenir et assurer la production de photosynthétats.

Tableau 1 : Effets du stress salin (100 mM NaCl) sur les paramètres de croissance de la plante.

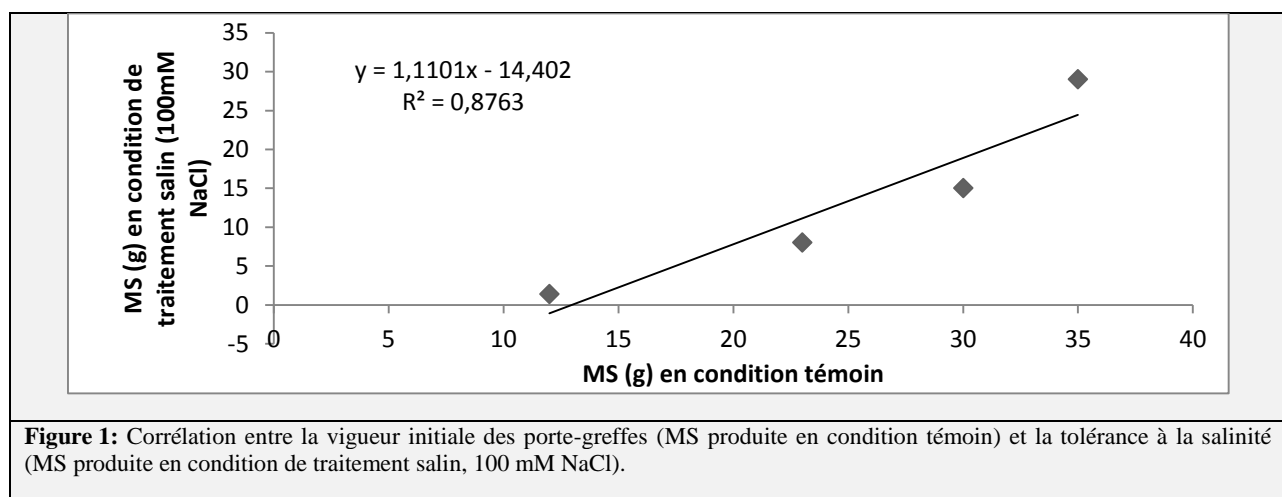
Porte-greffes	140R		110R		1103P		SO ₄	
	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité
MS totale (g)	34,53 a	28,95 a	29,84 a	14,74 c	22,89 b	7,40 d	12,13 c	1,37 e
MS aérienne (g)	22,88 ab	20,39 ab	26,02 a	12,92 c	19,51 b	6,55 d	10,59 cd	1,14 e
MS racinaire (g)	11,65 a	8,56 b	3,82 c	1,82 d	3,38 c	0,85 de	1,54 d	0,23 e
Nombre de feuilles	210 a	80 c	180 a	120 b	140 b	60 c	50 c	8 d
Surface moyenne d'une feuille (cm²)	146 b	102 c	146 b	96 c	148 b	86 c	211 a	38 d
Surface foliaire totale (m²)	3 a	1,1 bc	2,7 a	1,1 bc	2,3 ab	0,7 c	1,1 bc	0,05 d
Teneur en chlorophylle (µg.g⁻¹ MF)	15,5 a	14,5 a	14,5 a	16 a	16 a	14,5 a	14 a	12 a
Quantité de chlorophylle (mg)	1,1 a	0,2 b	0,8 a	0,35 b	0,8 a	0,15 b	0,3 b	0,01 c
Teneur en eau (%)	74 a	65 ab	75 a	65 ab	81 a	64 ab	77 a	52 b
Indice de sensibilité		122		-63		-87		-96

Moyennes de 13 répétitions. Les valeurs (sur la même ligne) suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Classement des moyennes selon le test de Duncan, $\alpha = 0.05$).

Chez les porte-greffes, les racines semblent constituer le premier et principal lieu où se déroulent les mécanismes d'ajustement et de régulation de croissance afin de pouvoir faire face au stress. La résistance du système racinaire au stress salin peut être due à une diminution de l'allocation du carbone pour la croissance foliaire au profit de la croissance racinaire or ce n'est pas ce qu'on observe chez les porte-greffes de vigne. La fourniture d'éléments minéraux par les racines pourrait également être proportionnelle à la demande de la partie aérienne sans différence entre génotypes (Ollat et al. 2003). Ces différences pourraient correspondre à des besoins énergétiques variables (Ollat et al. 2003). Cela montre l'importance, encore une fois, de la tolérance des porte-greffes par l'action de leur système racinaire et non appareil aérien (qui disparaît lors du greffage): même si il y a réduction de la croissance racinaire (chez les tolérants) la croissance pondérale de la plante entière ne varie pas, donc le porte-greffe, de par sa vigueur spécifique (due à son système racinaire), sacrifie et réduit sa croissance racinaire au profit de l'appareil végétatif aérien responsable de la photosynthèse dont les produits seraient distribués de façon optimale pour assurer la survie et la croissance de la plante (Munns 2005). Au niveau physiologique, l'arrêt de croissance peut être considéré comme un moyen de préserver les carbohydrates pour le métabolisme et le développement durable, et de constituer des réserves énergétiques nécessaires à la reprise de croissance suite à la levée du stress. Ainsi, en étudiant l'effet de la salinité sur la production de matière sèche des plants, nous pouvons classer les porte-greffes en deux groupes ; le premier, composé de 140 Ruggeri qui n'est pas affecté de manière significative par la salinité bien que sa production de MS diminue, et le second, formé par 110R, 1103P et SO₄ et dont la production de MS est significativement réduite suite au traitement salin. On constate ainsi que le génotype le plus vigoureux, en l'occurrence le 140 Ruggeri, affiche la meilleure croissance et le meilleur comportement de tolérance face à la salinité, alors que les moins vigoureux tels que le SO₄ sont les plus affectés par la salinité avec une réduction de MS de 89 %. L'énergie dépensée pour la vigueur de croissance serait très probablement déviée vers les mécanismes de tolérance lors d'un stress salin. Il semble donc exister une corrélation positive entre le niveau de tolérance du génotype et sa vigueur propre (figure 1). En effet, nous avons pu déterminer une équation de type affine décrivant la relation entre la vigueur des porte-greffes et la tolérance à la salinité:

$$Y = 1.11X - 14.4 \text{ avec un coefficient de régression } R^2 = 0.876$$

où X représente la MS produite (après un mois de culture des plants) en condition contrôlée et Y, celle produite en condition saline (100 mM NaCl).



Nombre de feuilles

Le nombre total de feuilles par plante est significativement réduit suite à l'application du stress salin chez tous les porte-greffes (tableau 1). Dans les conditions contrôles, ce paramètre est variable selon les porte-greffes testés et peut être respectivement de 140, 180 et 210 pour 1103 Paulsen, 110 Richter et 140 Ruggeri et de 50 seulement pour SO₄. Or la diminution de croissance végétative exprimée que ce soit par la réduction du nombre de feuilles ou bien de la surface foliaire représente la première réponse des glycophytes exposés au stress salin (Munns 2005).

3.2.2. Surface foliaire

La mesure de la surface moyenne d'une feuille des différents porte-greffes a permis de constater que le SO₄ affiche la plus grande surface foliaire avec 211 cm² (tableau 1). Tandis que pour les autres porte-greffes, elle se situe aux alentours de 150 cm². La surface moyenne d'une feuille de vigne est sensiblement réduite par le traitement salin, particulièrement pour le SO₄ dont la réduction de surface atteint 80 %, traduisant encore une fois son extrême sensibilité. La réponse immédiate au stress salin se traduit par une réduction de la surface foliaire, entraînant aussi une diminution considérable des matières fraîche et sèche au niveau des feuilles mais aussi au niveau des tiges et des racines. L'étude de la surface foliaire totale permet de classer les porte-greffes en 2 groupes: 140R, 110R et 1103P dont la surface foliaire totale se situe entre 2 et 3 m², et SO₄ dont la surface foliaire totale est aux alentours de 1 m². Suite à l'application du stress salin, une réduction de la surface foliaire totale est observée chez tous les porte-greffes. La surface foliaire totale de SO₄ est la plus fortement réduite avec une réduction d'un facteur 10, alors que pour les autres porte-greffes, elle est réduite de moitié ou au tiers, ce qui est dans tous les cas très stressant pour la plante.

3.3. Effets du NaCl sur la teneur en chlorophylle totale

Concernant les teneurs en chlorophylle foliaire totale, celles-ci ne varient pas significativement suite au traitement salin (tableau 1). La quantité de chlorophylle est variable selon les porte-greffes. Elle est la plus élevée pour le 140R (~ 1.1 mg) très probablement en raison de sa grande surface foliaire totale (tableau 1). Il semblerait que chez les génotypes *V. Berlandieri* x *V. Rupestris* ou *V. Berlandieri* x *V. Riparia*, la teneur en chlorophylle par feuille est constante. La quantité totale de chlorophylle est sévèrement affectée par le traitement chez tous les porte-greffes. Chez le SO₄, la plante ne contient pratiquement plus de chlorophylle en raison de la chute des feuilles dont le nombre est réduit à 8 (tableau 1). Cette réduction des teneurs en chlorophylle associée à l'augmentation de la résistance stomatique vont entraîner une diminution de l'activité photosynthétique (Downton et al. 1990).

3.4. Effets du NaCl sur la teneur en eau

L'application d'un stress salin ne modifie pas la teneur en eau des porte-greffes testés sauf pour le porte-greffe SO₄ (tableau 1). L'analyse statistique n'a pas révélé une différence significative entre le stressé et le témoin chez les porte-greffes testés sauf pour SO₄. Nous confirmons de nouveau à travers ce paramètre l'extrême sensibilité de ce porte-greffe. Ainsi l'application d'un traitement salin n'a pas causé une réduction significative de la teneur en eau, qui est considérée comme un excellent indicateur de l'état hydrique de la plante. Ceci concorde avec nos résultats puisque les plants de tous les porte-greffes sauf SO₄ ont présenté un bon ajustement osmotique, l'hydratation des plants ayant toujours été maintenue sensiblement égale à celle des témoins. Ainsi, on peut exclure que l'effet inhibiteur de NaCl sur leur croissance passe par une perturbation de leur alimentation en eau.

3.5. Indice de sensibilité

L'analyse du paramètre lié à la sensibilité de la plante montre que la production de la matière sèche est plus affectée par le sel chez les porte-greffes SO₄, 1103P et 110R que chez le 140R (tableau 1) indiquant ainsi sa meilleure aptitude à tolérer cette contrainte.

3.6. Effet du NaCl sur la nutrition minérale des plantes

3.6.1. Effet du NaCl sur l'accumulation de sodium

L'application du traitement salin entraîne chez tous les porte-greffes une augmentation significative des concentrations de sodium dans tous les organes des plantes traitées par rapport aux témoins (tableau 2), particulièrement chez le 1103P et le 140R. En termes de quantités, cela est également confirmé, sauf pour le SO₄ qui voit ses quantités de sodium nettement diminuer dans tous les organes de la plante traitée (tableau 3). En moyenne, chez le 140R, qui affiche les plus grandes valeurs d'accumulation de sodium, celles-ci triplent au niveau de la plante entière et quadruple dans la partie aérienne suite au traitement salin (tableau 3), dénotant ainsi sa remarquable capacité d'accumulation de sodium dans les tissus *via* le mécanisme de compartimentation vacuolaire (Blumwald 2000). Par ailleurs, nous avons constaté chez les plantes de SO₄, des concentrations en Na⁺ quelque peu élevées (pouvant atteindre 1mmol/g MS notamment dans les racines) dans les conditions témoins, alors que pour tous les autres porte-greffes, celles-ci sont en deçà de 0.5 mmol/g MS avec un gradient décroissant des racines vers les feuilles. Les porte-greffes 110R, 1103P et SO₄, affichant les plus faibles valeurs de concentration de sodium au niveau des feuilles (tableau 2) parallèlement à des valeurs élevées au niveau des racines, semblent procéder à son exclusion vers les racines. Cette faible capacité

d'accumulation de sodium foliaire, due à une mauvaise efficacité de compartimentation vacuolaire du sodium foliaire, serait une caractéristique des génotypes sensibles. La partie racinaire des porte-greffes sensibles (SO₄) ou moyennement sensibles (110R et 1103P) affiche les plus fortes concentrations en sodium, bien qu'il ne s'agisse pas de l'organe qui accumule le plus de sodium. Les niveaux de concentration en sodium obtenus semblent signifier que chez les porte-greffes tolérants, il y a d'abord accumulation de sodium dans les parties aériennes puis lorsque cela atteint les doses toxiques, le compartiment racinaire semble prendre le relais et contribuer à son tour à la tolérance. On ne peut savoir quel organe (racine, tige ou feuille) est en premier lieu chargé et rempli de sodium : les deux mécanismes de stockage de sodium, successivement ou simultanément seraient probables. Une étude tenant compte de la cinétique et dynamique d'accumulation du sodium dans les différents organes serait nécessaire afin de confirmer l'une ou l'autre hypothèse. Une étude intéressante dans ce sens a montré que l'arrosage par un système de « *mist irrigation* » de la partie végétative ne modifiait pas les concentrations des ions Na⁺, Cl⁻ et K⁺ dans la partie racinaire (Stevens et al. 1996). Il semblerait ainsi que ces ions n'aient pas migré dans le sens descendant, toutefois ce mécanisme pourrait être déficient pour les génotypes de vigne utilisés dans cette étude. Par ailleurs, beaucoup de glycophytes ont une capacité de compartimentation vacuolaire limitée, et de ce fait tendent à refaire véhiculer le sodium en excès des feuilles vers les racines. Ce transport de sodium de la partie aérienne vers la partie racinaire est probablement assuré par les transporteurs SOS1 et HKT1 chez *Arabidopsis* et le blé *via* le phloème (Shi et al. 2002, Berthomieu et al. 2003). Pour le 140R qui se distingue des autres porte-greffes, les feuilles atteignent une concentration en sodium de 800 µmol/g MS, la tige, 1250 µmol/g MS, alors que les racines présentent une concentration de 750 µmol/g MS, et semble d'après son développement végétatif encore capable de tolérer le NaCl et de l'accumuler dans ses tissus. Ainsi, le porte-greffe tolérant parvient à accumuler plus de sodium au niveau de leur partie aérienne (feuilles en premier lieu puis tiges) que les sensibles (tableau 2 et 3). Les différences génotypiques observées sont les suivantes:

- (i) Le porte-greffe tolérant 140R accumule et stocke le sodium dans les feuilles et tiges et à un degré moindre dans les racines,
- (ii) Le porte-greffe 110 Richter, moyennement sensible, manifeste et maintient un gradient de concentration de sodium nettement décroissant des racines vers les feuilles,
- (iii) Les porte-greffes sensibles SO₄ et 1103P maintiennent également un gradient de concentration de sodium décroissant des racines vers les feuilles, mais avec des concentrations plus faibles que le 110R au niveau des racines.

Deux types de comportement ont été ainsi constatés chez les porte-greffes face au stress salin :

- Un comportement de type *include* chez le porte-greffe tolérant 140R pour lequel les plus fortes concentrations (et quantités) en sodium sont enregistrées au niveau de la partie aérienne et particulièrement les feuilles où elles sont multipliées par un facteur 4 entre le témoin et traité, et seulement par 3 au niveau de la tige. Notons que ces concentrations ne font que doubler au niveau des racines suite à l'application du stress salin chez ce porte-greffe. Cette stratégie de tolérance implique nécessairement l'intervention d'un mécanisme de compartimentation vacuolaire du sodium qui est assuré par un antiport vacuolaire de type NHX (Blumwald 2000) et dont un ADNc a été identifié et caractérisé chez la vigne cultivée (*Vitis vinifera*) par Hanana et al. (2007).
- Un comportement de type *exclude* chez les porte-greffes sensibles notamment SO₄, 110R et 1103P pour lesquels les plus fortes concentrations en sodium sont enregistrées au niveau de la partie racinaire et qui représentent approximativement le double de celles enregistrées par 140R au niveau des plants stressés.

La sensibilité de SO₄, 1103P et 110R semble être liée à leur incapacité d'accumuler des concentrations (et quantités) élevées de sodium au niveau de leurs parties aériennes. Tandis que la faculté de tolérance et d'adaptation du 140R serait intimement liée à son aptitude à accumuler et à stocker le sodium au niveau de ses parties aériennes, en l'occurrence les feuilles et les tiges. Ainsi les porte-greffes de vigne sensibles seraient de type *exclude* alors que les tolérants adopteraient plutôt un comportement *include* vis-à-vis du sodium. La partie aérienne des porte-greffes constitue ainsi un compartiment capital à préserver afin d'assurer une adaptation au stress salin. Or les porte-greffes tolérants n'affectent pas la croissance de leur partie aérienne suite au stress salin. En effet, nous avons démontré précédemment que le stress salin affecte la croissance

racinaire chez tous les porte-greffes qu'ils soient tolérants ou sensibles. Or les porte-greffes tolérants n'utilisent pas vraiment le compartiment racinaire comme le lieu de stockage du sodium, mais plutôt la partie aérienne dont la croissance ne subit pas de réduction significative chez ces derniers. Ainsi, le maintien et la conservation d'une certaine masse végétale aérienne va constituer un moyen très efficace pour stocker le sodium toxique et réaliser ainsi une sorte de dilution de cet ion toxique. D'où le rôle prédominant et capital de la vigueur initiale du porte-greffe dans son adaptation au stress salin. Le sodium est toxique lorsqu'il est présent à de fortes concentrations au niveau du cytoplasme des cellules foliaires car il inhibe les réactions enzymatiques, sauf s'il est compartimenté au niveau des vacuoles de ces cellules (Blumwald 2000). Donc si un génotype tolérant comme le 140R affiche des concentrations élevées de sodium dans ses feuilles, cela signifie qu'il procède à sa compartimentation dans la vacuole pour protéger le cytoplasme de sa toxicité, sinon il va exclure le sodium dans les cellules des tissus de la tige et des racines où il y a peu de réactions enzymatiques vitales pour la plante. Par conséquent, un génotype sensible, étant peu capable de compartimenter le sodium dans les vacuoles des cellules des feuilles de manière à les protéger, tentera plutôt de l'exclure vers la partie racinaire, pour autant que cet appareil soit bien développé en conditions de stress salin et ce qui n'est pas le cas. De ce fait, dès les faibles concentrations de sodium, les symptômes de toxicité vont se manifester de façon précoce chez les porte-greffes sensibles. En condition de stress salin, la plante absorbe et transporte le Na^+ dans ses organes aériens. Les feuilles les plus âgées présentent une surcharge en Na^+ , contrairement aux feuilles jeunes (tableau 4), et cela forme un gradient décroissant d'accumulation du sodium des feuilles âgées basales vers les feuilles plus jeunes apicales. Cette rétention de Na^+ dans les étages foliaires inférieurs pourrait représenter un mécanisme de protection des feuilles jeunes contre les effets toxiques de Na^+ . Vraisemblablement, chez les porte-greffes de vigne, particulièrement les génotypes tolérants, il existe un système de transport et de compartimentation du sodium très minutieux et efficace. Bien que les niveaux d'accumulation de Na^+ des feuilles jeunes soient nettement plus faibles que ceux mesurés sur les feuilles âgées (tableau 4), ces perturbations ioniques ont peu d'effet sur la production de matière sèche. Les glycophytes les plus sensibles au sel restreignent et limitent le transport de Na^+ vers les parties aériennes et maintiennent de la sorte des niveaux du sel relativement bas dans les tissus photosynthétiques. D'autres glycophytes tolérant le sel, comme le cotonnier ou l'orge, transportent et accumulent de grandes quantités de Na^+ dans leurs feuilles. Cette contradiction apparente provient de l'existence de deux comportements distincts concernant la distribution de Na^+ dans les plantes. Les espèces les plus sensibles à la salinité sont incapables de compartimenter le Na^+ dans les vacuoles des cellules des tissus foliaires, de façon à limiter la concentration cytoplasmique de cet ion. Chez ces espèces, la restriction du transport du sel dans les organes aériens correspond à une protection contre le NaCl. Au contraire, les espèces glycophytes relativement tolérantes se caractérisent par un transport de grandes quantités de NaCl dans les feuilles, rendu possible grâce à une compartimentation efficace du Na^+ dans les vacuoles. Le tableau 2 reflète la capacité d'accumulation de sodium de chaque porte-greffe pour chaque organe, et elle démontre que le caractère de tolérance est étroitement lié à la capacité d'accumulation de sodium particulièrement dans la partie aérienne composée des feuilles et de la tige qui représente un organe rigide et persistant durant la phase de dormance hivernale au cours de laquelle la vigne perd ses feuilles. Cela confirme le comportement incluant des porte-greffes tolérants la salinité. Le porte-greffe 140R est capable d'accumuler 28 fois plus de sodium que le porte-greffe hyper-sensible SO₄ (28 et 1 mM Na^+ respectivement). La partie aérienne de 140R représente 70 % de la capacité d'accumulation du sodium de la plante entière. Les quantités de sodium accumulées dans la partie aérienne ont presque quadruplé pour le 140R entre le témoin et le traité (tableau 3). Troncoso et al. (1999), en étudiant *in vitro* le comportement des porte-greffes de vigne vis-à-vis de la salinité, ont constaté que les génotypes tolérants accumulaient nettement plus de sodium que les sensibles en condition de stress salin. Le même comportement a été observé par Downton (1977a) sur des vignes cultivées en plein champ. Paradoxalement, Garcia et Charbaji (1993) ont rapporté que ce sont les variétés tolérantes qui accumulent le moins de sodium. Cette différence de comportement s'expliquerait probablement par le fait qu'il s'agit de porte-greffes (*V. sylvestris*, *V. berlandieri* x *V. rupestris* ou x *V. riparia*) dans un cas et de variétés (*V. vinifera*) pour l'autre et donc pas les mêmes espèces, mais aussi parce que les conditions d'analyse sont différentes (*in vitro*, sous serre ou en plein champ). Par ailleurs, il est connu que les porte-greffes hybrides issus de croisement avec un parent *V. riparia* tels que le SO₄ (*V. berlandieri* x *V. riparia*) ou le 101-14 MG (*V. riparia* x *V. rupestris*) présentent une grande sensibilité au chlorure de sodium.

Tableau 2 : Influence du stress salin (100 mM NaCl) sur la teneur des éléments minéraux au niveau des différents organes.

Ion	Organe	140R		110R		1103P		S0 ₄	
		Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité
Na ⁺	F	195 b	816 g	60 a	206 c	78 a	402 d	250 c	411 d
	T	411 d	1248 i	325 d	639 e	175 b	764 fg	650 e	862 g
	R	391 d	743 fg	543 e	1538 j	193 b	1125 h	1100 h	1288 i
Cl ⁻	F	0 a	88 c	0 a	32 b	0 a	61 c	0 a	108 d
	T	0 a	61 c	0 a	40 b	0 a	61 c	0 a	131 d
	R	0 a	54 bc	0 a	139 d	0 a	104 d	0 a	175 e
K ⁺	F	935 f	1185 h	621 c	940 f	324 b	939 f	941 fg	867 ef
	T	918 f	609 c	1054 g	813 de	1439 i	786 de	951 fg	704 cd
	R	343 b	184 a	1187 h	789 de	1185 h	656 c	1869 j	732 cd
Ca ²⁺	F	1151 f	1954 g	292 a	412 b	202 a	421 b	253 a	312 ab
	T	896 e	803 de	679 cd	240 a	403 b	438 b	247 a	678 c
	R	615 c	811 de	479 b	738 d	604 c	414 b	1126 f	954 e

Moyennes de 13 répétitions (F : feuilles, T : tiges, R : racines). Pour chaque ion, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Classement des moyennes selon le test de Duncan, $\alpha = 0.05$).

Tableau 3 : Influence du stress salin (100 mM NaCl) sur la quantité des éléments minéraux au niveau des différents organes.

Ion	Organe	140R		110R		1103P		S0 ₄	
		Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité	Témoin	Traité
Na ⁺ (mM)	F	3,37 de	5,48 f	0,82 ab	1,47 bc	0,83 ab	1,36 bc	1,56 b	0,21 a
	T	2,72 cd	15,34 h	3,82 e	4,11 e	1,63 bc	2,29 c	3,42 de	0,55 ab
	R	3,85 e	7,20 g	2,04 c	3,40 de	0,63 ab	1,12 b	1,54 b	0,33 a
	Total	9,94 D	28,02 E	6,68 C	8,98 D	3,09 B	4,77 B	6,52 C	1,09 A
Cl ⁻ (mM)	F	0	0,58 b	0	0,24 ab	0	0,22 a	0	0,06 a
	T	0	0,77 b	0	0,28 ab	0	0,20 a	0	0,08 a
	R	0	0,52 b	0	0,30 ab	0	0,10 a	0	0,04 a
	Total	0	1,876 B	0	0,82 A	0	0,52 A	0	0,18 A
K ⁺ (mM)	F	16,11 g	8,10 e	8,49 e	6,73 d	3,43 b	2,92 bc	4,94 cd	0,42 a
	T	5,97 d	10,21 f	12,37 f	5,23 cd	13,51 g	2,36 b	4,90 cd	0,45 a
	R	5,92 d	3,89 c	4,11 c	1,74 b	3,85 bc	0,77 a	2,71 b	0,24 a
	Total	28,00 E	22,20 D	24,97 D	13,70 C	20,79 D	6,05 B	12,55 C	1,11 A
Ca ²⁺ (mM)	F	19,56 g	13,17 f	3,01 c	3,15 c	1,59 b	1,64 b	1,13 b	0,14 a
	T	5,94 d	9,87 e	7,98 e	1,55 b	3,78 c	1,31 b	1,27 b	0,42 ab
	R	6,06 d	7,86 d	1,66 b	1,63 b	1,97 bc	0,41 ab	1,63 b	0,24 a
	Total	31,56 E	30,90 E	12,65 D	6,33 C	7,34 C	3,36 B	4,03 B	0,80 A
K/Na	F	4,78	1,48	10,34	4,57	4,15	2,15	3,15	1,95
	T	2,19	0,66	3,24	1,27	8,27	1,03	1,43	0,82
	R	1,54	0,54	2,01	0,51	6,14	0,69	1,75	0,74

Moyennes de 13 répétitions (F : feuilles, T : tiges, R : racines). Pour chaque ion, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Classement des moyennes selon le test de Duncan, $\alpha = 0.05$).

3.6.2. Effet du NaCl sur l'accumulation des chlorures

L'application du traitement salin (100 mM NaCl) engendre une augmentation très significative des concentrations en chlore dans tous les organes de la plante et pour tous les génotypes (tableau 2). Toutefois, il est important de remarquer que ces teneurs sont nettement en deçà de celles obtenues pour le sodium. En effet, elles ne dépassent guère 175 $\mu\text{mol/g MS}$, alors que celles de sodium peuvent atteindre 1500 $\mu\text{mol/g MS}$ pour les plants traités. Il apparaît que le 140R accumule les plus faibles concentrations en chlore contrairement aux génotypes sensibles qui affichent les plus fortes concentrations, ce qui nous laisse supposer que le chlore représente pour la vigne un élément fortement toxique. L'analyse minérale a aussi révélé que l'accumulation du chlore varie en fonction de l'organe et du porte-greffe testé (tableau 2). La teneur en chlore des racines est significativement plus élevée que celles des deux autres parties sauf pour le porte-greffe 140R dont les teneurs sont plus élevées au niveau des feuilles que la tige et les racines. Ainsi, contrairement au sodium, le chlore est principalement accumulé au niveau des racines. Les porte-greffes adoptent donc un comportement d'exclusion des ions chlorure toxiques vers la partie racinaire afin de protéger leur partie aérienne. Il apparaît aussi que le génotype le plus tolérant accumule les plus grandes quantités de chlore, mais les écarts entre les potentialités d'accumulation des différents génotypes ne sont plus aussi grands que ceux enregistrés pour le sodium (tableau 3). En ce sens que le porte-greffe 140R, par exemple, accumule 10 fois plus de chlore que le SO₄. Les capacités d'accumulation de cet ion sont nettement amoindries chez tous les génotypes ce qui prouve l'effet toxique du chlore chez la vigne, probablement plus que le sodium. Walker et al. (2002) ont montré que chez la vigne, la tolérance à la salinité peut être influencée par la distribution des racines et peut impliquer la contribution d'exclusion de chlorure. Les résultats de nos travaux concernant la capacité d'accumulation des chlorures des porte-greffes 140R, 110R et à un degré moindre 1103P confirment ceux de Downton (1977b). Il a été démontré par Hechenberger et al. (1996) que la compartimentation des ions chlorure à l'intérieur de la vacuole est assurée par des canaux chlorure CLC. Les teneurs en chlorures des différentes parties foliaires (basale, médiane et apicale) ne diffèrent pas de manière significative (tableau 4). Il n'y a pas d'accumulation préférentielle des chlorures au niveau des feuilles âgées basales comme nous l'avons constatée pour le sodium et il semble ainsi que la régulation de la distribution des chlorures, après leur absorption et pénétration dans les tissus, ne soit pas aussi efficace que celle du sodium, même pour les porte-greffes tolérants. Le transport des ions chlorure vers la partie aérienne est contrôlé par les racines (Downton 1977a). Toutefois, peu d'informations sont disponibles quant au mécanisme proprement dit, sauf que cela pourrait impliquer la restriction de l'absorption des chlorures et leur compartimentation vacuolaire au niveau des racines (Storey et al. 2003). En Australie (Vignoble de CSIRO, Victoria), le génotype *Vitis berlandieri* a été utilisé dans un programme de croisement en raison de son aptitude à réaliser l'exclusion des ions chlorure (Downton 1977a et b). Nos résultats confirment le fait que les racines de vigne servent de compartimentation et d'accumulation des ions chlorure (Downton 1977a et b, Storey et al. 2003). On constate de manière très nette que sous stress salin, les porte-greffes de vigne accumulent beaucoup plus de sodium dans leurs organes que de chlore.

Tableau 4 : Influence du stress salin (100 mM NaCl) sur la teneur des éléments minéraux au niveau des différents étages foliaires (FB : basal, FM : médian, FA : apical) de la plante stressée.

Ion ($\mu\text{M.g}^{-1}\text{ MS}$)	Organe	140R	110R	1103P	SO ₄
Na ⁺	FA	486 c	127 a	599 d	112 a
	FM	632 d	160 a	152 a	138 a
	FB	826 e	345 bc	269 b	447 c
Cl ⁻	FA	83 bc	39 ab	98 c	14 a
	FM	58 abc	43 ab	100 c	84 bc
	FB	75 bc	34 a	65 bc	63 bc
K ⁺	FA	1239 e	868 c	917 c	13 a
	FM	845 c	811 c	875 c	1000 d
	FB	1251 e	728 b	633 b	1021 d
Ca ²⁺	FA	1280 c	100 a	120 a	90 a
	FM	1105 c	300 b	350 b	300 b
	FB	1200 c	320 b	380 b	315 b

Moyennes de 13 répétitions. Pour chaque ion, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (Classement des moyennes selon le test de Duncan, $\alpha = 0.05$).

3.6.3. Effet du NaCl sur l'accumulation de potassium

Au niveau des feuilles, les concentrations en potassium augmentent suite au traitement salin pour tous les porte-greffes, excepté le plus sensible SO₄ (tableau 2). Cela semble être un comportement de survie via cet ajustement osmotique adopté par les porte-greffes, autrement leur devenir serait de périr comme le cas du SO₄. Au niveau de la tige et des racines, les concentrations en potassium sont amoindries par rapport aux témoins pour tous les porte-greffes. Chez les porte-greffes de vigne testés, l'absorption de K⁺ est limitée surtout au niveau des tiges et racines, par contre au niveau des feuilles on note une augmentation de l'accumulation sauf pour le porte-greffe SO₄ qui s'est montré le plus sensible. Il semble ainsi que c'est surtout au niveau des feuilles que la plante essaye de s'adapter au stress salin en réajustant son potentiel osmotique via l'ion potassium. En guise de réaction de tolérance et afin d'ajustement osmotique, la plante essaye de transporter un maximum de potassium des parties inférieures (racines et tiges) vers les feuilles où le besoin est plus important. Cela explique les faibles concentrations en potassium au niveau des racines et tige car cet élément est transféré vers les feuilles. A l'interface racine/sol, l'excès de Na⁺ peut limiter l'approvisionnement de la plante en macroéléments essentiels tel que K⁺. Une composante de la tolérance à la salinité sera donc l'efficacité avec laquelle K⁺ est absorbé et utilisé pour les besoins métaboliques et la régulation osmotique. Une variabilité s'est manifestée à cet égard au sein des porte-greffes, ce qui permet d'envisager une sélection pour l'efficacité nutritionnelle en présence de Na⁺. Les quantités de potassium accumulées sont également indicatrices du comportement de tolérance/sensibilité des porte-greffes. En effet, le porte-greffe tolérant est capable d'accumuler de grandes quantités de potassium et particulièrement dans la tige; par exemple, dans toute la plante, 140R accumule 20 fois plus de potassium que le SO₄ (tableau 3). L'efficacité d'absorption et d'utilisation du potassium, qui agit comme osmoticum, est donc capitale dans l'adaptation au stress salin. L'analyse *in vitro* de la tolérance à la salinité des porte-greffes de vigne, effectuée par Troncoso et al. (1999), a montré que les teneurs en potassium dans les tissus évoluaient de façon inversement proportionnelle aux concentrations de NaCl. Cependant, les porte-greffes tolérants ont affiché des teneurs supérieures à celles des sensibles.

3.6.4. Effet du NaCl sur l'accumulation de calcium

Au niveau des feuilles, les concentrations de calcium augmentent suite au traitement salin, particulièrement chez le 140R, bien que les quantités accumulées diminuent (tableau 2 et 3). Une accumulation de quantités élevées de calcium a été constatée au niveau des feuilles, particulièrement apicales et jeunes, toujours chez le 140R par rapport aux autres porte-greffes (tableau 4). Ceci serait probablement lié à son rôle dans les mécanismes de signalisation et d'adaptation au stress, particulièrement chez les porte-greffes tolérants. Comme pour le potassium, l'analyse *in vitro* de la tolérance à la salinité des porte-greffes de vigne, effectuée par Troncoso et al. (1999), a montré que les teneurs en calcium dans les tissus évoluaient de façon inversement proportionnelle aux concentrations de NaCl, et que les porte-greffes tolérants ont affiché des teneurs supérieures à celles des sensibles.

3.6.5. Effet du NaCl sur l'accumulation de magnésium

Les concentrations en magnésium ne semblent pas être affectées ni modifiées de manière significative par la salinité appliquée sur les plants. Une légère baisse des concentrations de magnésium, bien que non significative, est enregistrée chez le génotype tolérant 140R. Il ne semble pas que cet élément soit un critère capital quant à l'adaptation des plantes au traitement salin. Les quantités accumulées ne reflètent pas non plus un aspect particulier de la tolérance à la salinité. Nos résultats sont en accord avec ceux de Troncoso et al. (1999).

3.6.6. Rapport K⁺/Na⁺

Le rapport K/Na affiche une tendance générale à la baisse particulièrement au niveau de la partie aérienne de la plante (tableau 3). Ce rapport est plus élevé au niveau des feuilles que la tige et les racines, quelle que soit la condition de culture, sauf pour le 1103P en condition témoin. En effet, le potassium est très sollicité au niveau du compartiment aérien pour la réalisation des métabolismes cellulaires où il est généralement employé comme cofacteur dans les réactions enzymatiques et biochimiques. Chez le porte-greffe 1103P, le rapport K/Na chute fortement au niveau de tous les organes. Vraisemblablement, en présence de sel, les plantes transportent dans leurs feuilles des quantités en Na⁺ plus importantes qu'en K⁺. La faible accumulation de K⁺ s'accompagne d'une diminution de la teneur en eau. L'évolution de cette dernière, signifie que la croissance de la feuille est liée à la quantité de K⁺ qui lui parvient. Cette situation résulte

essentiellement de l'exportation sélective du sodium vers la partie aérienne via le xylème. Cette compétition entre le sodium et le potassium est également bien connue suggérant que le mécanisme d'absorption de ces deux ions est similaire (Apse et Blumwald 2007).

4. Conclusion

Ainsi, d'après nos analyses, il s'est avéré que le degré de tolérance des porte-greffes semble être lié à leur niveau de vigueur. En effet, le porte-greffe classé vigoureux (d'après la croissance végétative et/ou racinaire estimée à partir de la production de matière sèche totale et/ou racinaire) est également tolérant à la salinité et vice-versa. Ainsi nous pouvons établir une échelle où figure un classement de tolérance des porte-greffes à la salinité (par ordre décroissant) :

140 Ruggeri > 110 Richter > 1103 Paulsen > SO₄

Par ailleurs, la production de MS, le nombre de feuilles et à un degré moindre la surface foliaire et les teneurs en chlorophylle et en eau sont des paramètres très sensibles à la salinité et peuvent en conséquent servir comme marqueurs de tolérance ou de sensibilité à la salinité.

Il existe toutefois des contradictions dans la bibliographie concernant la tolérance à la salinité des porte-greffes de vigne ainsi que l'accumulation de sels au niveau des tissus, probablement en raison de facteurs additionnels relatifs au dispositif expérimental. Le comportement de tolérance à la salinité est donc d'après notre étude intimement lié à la vigueur du porte-greffe (maintien de la croissance et de l'activité photosynthétique) ainsi qu'à son aptitude à accumuler le sodium au niveau de la partie aérienne (feuilles et tiges) et plus spécifiquement au niveau des feuilles âgées (comportement dit incluser vis-à-vis du sodium), à restreindre l'entrée et le stockage des chlorure au niveau des tissus (comportement excluser vis-à-vis des chlorure), et à sa capacité de transférer et accumuler le potassium au niveau des feuilles pour réaliser l'ajustement osmotique, mais aussi en premier temps à faire intervenir les mécanismes de signalisation de stress *via* l'augmentation des teneurs en calcium au niveau des feuilles (et surtout les feuilles apicales jeunes). Au terme de cette étude, nous pouvons conclure que le stress salin constitue un facteur limitant pour la culture des porte-greffes de vigne en affectant un grand nombre de processus physiologiques, mais des différences génotypiques importantes ont été révélées, ce qui offre des possibilités de sélection de certains génotypes pour une meilleure adaptation à la salinité. Malheureusement, la plupart des porte-greffes utilisés actuellement sont issus de croisements interspécifiques au sein d'un petit nombre d'espèces du genre *Vitis*. Les espèces les plus utilisées ont été *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis berlandieri*. Ces porte-greffes ont été, à une très grande majorité, sélectionnés à la fin du XIX^{ème} siècle pour répondre au problème du phylloxéra. Au cours du XX^{ème} siècle, la sélection de nouveaux porte-greffes a été très limitée dans le monde. D'autant plus que les objectifs de sélection depuis 100 ans ont peu concerné la tolérance à la salinité. Par conséquent, la variabilité génétique existante n'a jamais été étudiée et valorisée en tenant compte de ce paramètre. De plus, le genre *Vitis* comprend un grand nombre d'espèces qu'il serait intéressant d'explorer. L'identification de géniteurs potentiellement intéressants pour le caractère tolérance à la salinité et vigueur conférée implique aussi que des études soient menées sur la transmission de ces caractères à leur descendance.

5. Références

- Apse M, Blumwald E (2007) Na⁺ transport in plants. FEBS Letters, 581: 2247-2254.
- Berthomieu P, Conéjéro G, Nublat A, Brackenbury WJ (2003) Functional analysis of *AtHKT1* in Arabidopsis shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. EMBO J., 22: 2004-2014.
- Blumwald E (2000) Sodium transport and salt tolerance in plants. Curr. Opin. Cell Biol., 12: 431-434.
- Downton WJS (1977a) Influence of rootstocks on the accumulation of chloride, sodium and potassium in grapevines. Australian Journal of Agricultural Research, 28: 879-889.
- Downton WJS (1977b) Chloride accumulation in different species of grapevine. Sci. Hortic., 7: 249-253.
- Downton WJS (1985) Growth and mineral composition of the sultana grapevine as influenced by salinity and rootstock. Australian Journal of Agricultural Research, 36: 425-434.
- Downton WJS, Loveys BR, Grant WJR (1990) Salinity effects on the stomatal behaviour of grapevine. New Phytologist, 116: 499-503.
- Garcia M, Charbaji T (1993) Effect of sodium chloride salinity on cation equilibria in grapevine. J. Plant Nutr., 16: 2225-2237.
- Hanana M, Cagnac O, Yamaguchi T, Hamdi S, Ghorbel A, Blumwald E (2007) A grape berry (*Vitis vinifera* L.) cation/proton antiporter is associated with berry ripening. Plant Cell Physiol., 48: 804-811.

- Hechenberger M, Schwappach B, Fischer WN, Frommer WB, Jentsch T, Steinmeyer (1996)** A family of putative chloride channels from Arabidopsis and functional complementation of a yeast strain with a CLC gene disruption. *Journal of Biological Chemistry*, 271: 33632-33638.
- Munns R (2005)** Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.*, 167: 645-663.
- 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 O.I.V.*, vol. 76 : n° 869-870, 581-595.
- Shi S, Quintero FJ, Pardo JM, Zhu J-K (2002)** The Putative Plasma Membrane Na⁺/H⁺ Antiporter SOS1 Controls Long-Distance Na⁺ Transport in Plants. *Plant Cell*, 14: 465-477.
- Stevens RM, Harvey G, Davies G (1996)** Separating the effects of foliar and root salt uptake on growth and mineral composition of four grapevine cultivars on their own roots and on 'Ramsey' rootstock. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 121: 569-575.
- Storey R, Schachtman DP, Thomas MR (2003)** Root structure and cellular chloride, sodium and potassium distribution in salinized grapevines. *Plant, Cell and Environment*, 26: 789-800.
- Troncoso A, Matte C, Cantos M, Lavee S (1999)** Evaluation of salt tolerance of in vitro-grown grapevine rootstock varieties. *Vitis*, 38: 55-60.
- Walker RB, Blackmore DH, Clingeffer RP, Ray CL (2002)** Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). I. Yield and vigor inter-relationships. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8: 3-14.
- Walker RR, Blackmore DH, Clingeffer PR, Godden P, Francis L, Valente P, Robinson E (2003)** Salinity effects on vines and wines. *Bulletin O.I.V.*, vol. 76: n° 865-866: 201-227.