

Processus de croissance et d'organogenèse chez le pommier cv Golden Delicious

Hechmi Mehri ⁽¹⁾, Jacques Crabbé ⁽²⁾

⁽¹⁾ École supérieure d'Horticulture de Chott-Meriem. 4042 Sousse (Tunisie).

⁽²⁾ Professeur honoraire à temps partiel de la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Passage des Déportés, 2. B-5030 Gembloux (Belgique).

Reçu le 12 décembre 2001, accepté le 23 janvier 2002.

Nous avons essayé de définir la séquence d'évènements organogénétiques, morphologiques et histologiques dans le méristème apical de la pousse du pommier cv Golden Delicious. Pour cela nous avons suivi : – l'organogenèse de la pousse de bourse pendant la période végétative ; – la croissance internodale et foliaire des 2 types de pousses de bourse (les longues et les courtes) ; – l'histogenèse du méristème apical lors du développement de ces 2 structures ; – l'arrêt de croissance et le début de la formation du bourgeon terminal caractérisé par une hétéroblastie progressive au niveau des pousses longues et brusque au niveau des pousses courtes.

Mots-clés. Méristème, croissance, organogenèse, pommier.

Growth and organogenesis processes in apple tree cv Golden Delicious. This work aims to focus on the organogenetic activity, growth and histological processes in the shoot apical meristem of apple cv Golden Delicious. In that perspective we studied: – the organogenesis of the "bourse" shoot during vegetative period; – the internodal and leaf growth of the 2 types of "bourse" shoots (long and short); – the histological process of apical meristem during the development of these two structures; – the growth stopping and the beginning of terminal bud formation characterized by a progressive heteroblasty within the long "bourse" shoots and an abrupt heteroblasty within the short "bourse" shoots.

Keywords. Meristem, growth, organogenesis, apple tree.

1. INTRODUCTION

Trois types de pousses végétatives sont produites par le pommier :

- la pousse terminale qui se développe à partir du bourgeon apical de la saison précédente,
- des pousses qui se développent à partir des bourgeons axillaires des rameaux et
- les pousses de bourse qui se développent depuis la base des inflorescences (Abbott, 1962 ; Forshey *et al.*, 1987 ; Forshey, Elfving, 1989 ; Mehri, 1995).

Dans cette dernière catégorie, on distingue deux types de pousses : des pousses courtes ou "brachyblastes" dont la croissance internodale a été très réduite et des pousses longues ou "auxiblastes" dont la croissance des entre-nœuds est plus marquée.

L'obtention de ces deux types de pousses est le résultat des modalités de fonctionnement de l'apex. Ainsi une pousse longue est obtenue suite à un fonctionnement coordonné des trois activités de l'ontogenèse (organogénétique, d'allongement et de formation de feuilles) d'une pousse feuillée. Alors

qu'une pousse courte est la conséquence d'une rupture de l'équilibre de ce fonctionnement, suite à des conditions de végétation défavorables à l'allongement des entre-nœuds. Il en résulte une accumulation des structures formées par le méristème (primordia foliaires, jeunes feuilles et entre-nœuds courts) et un ralentissement de l'activité organogénétique. L'accumulation de ces jeunes organes a une influence inhibitrice sur l'activité organogénétique et sur la poursuite du développement des ébauches foliaires formées. Ces dernières se transforment en feuilles de transition puis en écailles. On assiste alors au développement des pousses courtes qui sont considérées comme des sites privilégiés de floraison chez de nombreuses espèces dont le pommier (Crabbé, 1987).

Protégée par les écailles, la tige embryonnaire poursuit sa croissance pendant l'été et l'automne. Cette croissance est essentiellement due à l'activité du méristème apical (par une multiplication des cellules méristématiques ou mères) formant ainsi des ébauches de feuilles et d'entre-nœuds très courts. Cette tige embryonnaire commence à croître par allongement des entre-nœuds (croissance intercalaire).

Ce début de grandissement n'affecte pas simultanément tous les entre-nœuds de la tige embryonnaire ; ce sont d'abord ceux de la base qui s'allongent, puis ceux de la partie supérieure.

L'observation microscopique des entre-nœuds en croissance montre que les cellules se différencient, se multiplient peu mais s'allongent beaucoup : c'est l'élongation cellulaire (ou auxèse) qui au cours de la deuxième phase de la croissance des tiges constitue le facteur dominant de l'allongement des entre-nœuds et donc de la tige.

La croissance végétative est très rapide pendant les 3 à 4 semaines après la floraison (Forshey *et al.*, 1983). Au début, la croissance des pousses est due aux hydrates de carbone de réserve, elle devient indépendante après avoir développé 5 à 6 feuilles. À ce stade, seulement 20 % des hydrates de carbone utilisés proviennent des réserves (Hansen, 1977 ; Johnson, Lakso, 1986a, b). Cette croissance est assurée au début par l'allongement des entre-nœuds du tronçon préformé. Au cours de la deuxième étape, le méristème apical prend le relais et initie de nouvelles ébauches d'entre-nœuds et de feuilles, donnant la partie néoformée du rameau (Huet, 1972).

L'objectif de ce travail est de définir la séquence d'évènements organogénétiques, morphologiques et histologiques dans le méristème apical de la pousse du pommier cv Golden Delicious. Pour cela nous avons suivi l'évolution et le fonctionnement du méristème de la pousse de bourse, sa croissance après débourrement jusqu'à l'arrêt de la végétation.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Matériel végétal

Les essais ont porté sur une vingtaine de pommiers de la variété Golden Delicious greffés sur M9, situés dans le verger de l'Unité fruitière et maraîchère de la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Ces arbres sont âgés d'une dizaine d'années (plantés en 1984 à un écartement de 1,5 × 3,5 m). Ils subissent les entretiens nécessaires comme la taille, les traitements phytosanitaires et le désherbage. Sur chacun de ces plants, 4 à 5 branches (âgées de 6 à 8 ans) directement insérées sur le tronc ont été étiquetées et ont constitué nos unités expérimentales.

Les échantillons (pousses de bourse) ont été choisis de la façon la plus homogène possible quant au stade de leur développement.

2.2 Méthodes

Croissance végétative de la pousse de bourse. Pour suivre la croissance et le développement végétatif, une dizaine de pousses ont été prélevées à intervalle d'une

semaine à partir du débourrement (début avril) jusqu'à l'arrêt de la croissance. Vers la mi-mai, deux types de pousses se distinguent :

- des pousses dont le développement n'est assuré que par un faible allongement des entre-nœuds du tronçon préformé : ce sont les pousses de bourse courtes.
- des pousses dont la croissance plus active se poursuit au-delà de la première phase et dont le méristème apical prend le relais en initiant de nouvelles ébauches d'entre-nœuds et de feuilles, donnant la partie néoformée : ce sont les pousses de bourse longues.

À partir de la mi-mai, les prélèvements d'échantillons portent sur une quinzaine de pousses par catégorie. Nos échantillons de pousses de bourse longues ont été prélevés parmi les pousses les plus longues et les plus représentatives de la population ; alors que les pousses courtes retenues étaient limitées à celles de 30 mm de longueur.

Ces échantillons sont classés en 3 lots qui serviront :

- à suivre le nombre et la nature des pièces préformées par le méristème apical des pousses, la longueur des entre-nœuds et enfin la longueur, la largeur et la surface formée par les ébauches foliaires ;
- à l'étude histologique du méristème apical de la pousse de bourse (courte et longue), ce qui permettra de suivre la différenciation des structures végétatives produites ;
- à étudier la structure du méristème apical pendant la croissance végétative, au moyen de la microscopie optique.

Dissection des échantillons et mesures des structures. La dissection des bourgeons a lieu le jour même du prélèvement et est effectuée sous une loupe binoculaire de marque Bausch & Lomb permettant des grossissements allant de 10 à 180 fois. Lors de la dissection, la nature, la dimension et l'ordre d'insertion des différentes pièces formées par le méristème du bourgeon apical (écaille, primordium de vraie feuille, primordium de feuille transitoire) ont été déterminés.

Techniques histologiques. L'étude histologique a été élaborée selon l'évolution ontogénique normale des plants de pommier. Ainsi, pendant le repos hivernal, l'étude anatomique des bourgeons floraux nous a permis de localiser et de suivre le développement gemmaire du bourgeon de bourse qui va donner naissance à la pousse de bourse.

Après le débourrement, on s'est intéressé à la partie apicale des pousses de bourse courtes et longues du début avril jusqu'à la mi-septembre.

Les échantillons prélevés sont immédiatement fixés pendant 1 à 4 heures au F.A.A. (Johansen, 1940).

Pour améliorer la pénétration du fixateur dans la zone apicale, nous avons procédé soit à l'écartement des écailles protectrices et des feuilles transitoires très poilues, soit à l'infiltration sous vide des bourgeons.

Après un rinçage à l'eau distillée, les échantillons sont déshydratés dans des solutions à titre croissant d'éthanol (30, 50, 70, 95 %) et dans trois bains d'alcool absolu d'une durée de 12 heures chacun. Ils sont ensuite plongés dans 3 bains de butanol d'une durée de 12 heures chacun et imprégnés par la paraffine liquide dans une étuve réglée à la température de 65 °C.

La mise en bloc s'est faite dans des moules en carton préalablement préparés et enduits de glycérine pour faciliter le détachement de la paraffine une fois solidifiée.

Les coupes sont réalisées au moyen d'un microtome rotatif (type Minot) de marque Ernst Leitz Wetzlar. L'épaisseur de la coupe varie de 4 à 8 μm selon la nature de l'échantillon.

Avant de procéder à la coloration, les coupes sont déparaffinées dans deux bains successifs de xylène (solvant de la paraffine) puis réhydratées progressivement dans des bains d'éthanol à concentrations décroissantes (95, 70, 50, et 30 %). La réhydratation est complétée par un bain d'eau. La durée de chaque bain est de 10 mn.

L'étude des caractères cytologiques des apex méristématiques des pousses de bourse a nécessité la coloration des coupes à l'hématoxyline. Nous avons utilisé l'hématoxyline de Regaud selon la technique décrite par Johansen (1940). Après hydratation, les coupes sont mordancées pendant deux heures dans une solution fraîchement préparée d'alun de fer à 3 %. Ensuite les coupes sont rincées à l'eau distillée et plongées dans un bain d'hématoxyline à 1 % vieillie selon le procédé de Mayer. L'excès de colorant est éliminé par un lavage à l'eau courante, la différenciation est réalisée à l'aide d'une solution d'alun de fer à 2 %. La durée de mordantage a été de 4 heures (cette durée peut varier de 3 à 12 heures selon le matériel utilisé). Le contrôle de la régression de la coloration se fait sous microscope.

3. RÉSULTATS

3.1. Organogenèse végétative de la pousse de bourse (du début avril au début mai)

La **figure 1** représentant la longueur des unités formées en fonction de leur ordre d'insertion nous fournit un certain nombre de renseignements quant au profil morphométrique d'une pousse de bourse au début du mois d'avril. À cette date (correspondant au début du débourrement, stade D selon Fleckinger), la pousse de bourse est bien individualisée et facilement repérable, avec 7 à 8 structures formées de jeunes

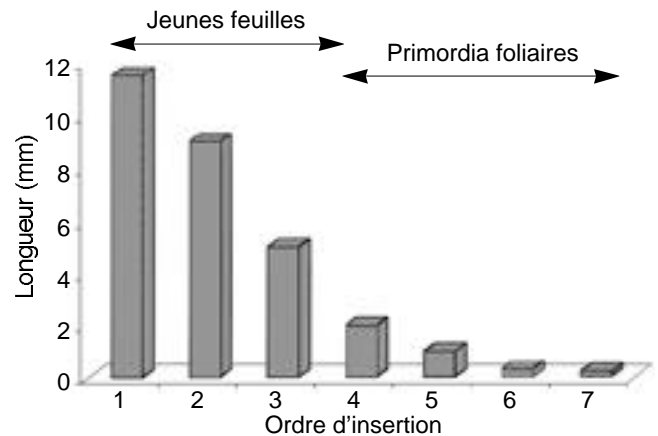


Figure 1. Profil morphométrique de la pousse de bourse (début avril) montrant les différentes structures qui la constituent (moyenne de 10 échantillons) — *Morphometric profil of the bourse shoot showing their different structures (mean values for 10 samples).*

feuilles et primordia de feuilles. Elle permet d'apprécier les proportions de ces différentes structures développées par le méristème en fonction de leur ordre d'insertion. Ainsi, on observe une diminution progressive de leur longueur passant de 11 mm (pièce d'ordre 1) à 100 μm pour l'initium d'ordre 7.

Vers la 3^e semaine du mois d'avril, (soit 15 jours après débourrement), la cataphylle protectrice du bourgeon de bourse se transforme en une petite feuille (f). Sa croissance sera limitée tout au long du développement de la pousse de bourse et elle finit par chuter dans la plupart des cas. Quant à la première vraie feuille (F_1) qui suit dans le sens acropète, elle est le résultat du développement du premier primordium du bourgeon de bourse. Elle atteint à ce stade une longueur moyenne de 46 ± 6 mm (**Figure 2-A1**) et évoluera tout au long de la croissance végétative. On signale parallèlement un début d'allongement internodal visible de la pousse de bourse. Les extrémités des jeunes feuilles sont encore enroulées sur elles-mêmes protégeant ainsi les structures internes (primordia de feuilles et méristème apical). À ce stade, la pousse de bourse est constituée de 9 à 10 pièces dont 4 à 5 sont considérées comme jeunes feuilles puisque leur longueur dépasse 5 mm. (longueur conventionnelle permettant de distinguer entre jeunes feuilles et primordia de feuilles et qui sera prise en considération tout au long de nos travaux). Le reste est constitué de primordia de feuilles (au nombre de 5 à 6) qui évolueront ultérieurement lors de la croissance végétative.

L'état histologique illustré par la **figure 2-B1** montre que la partie apicale de l'axe de la pousse de bourse est occupée par une zone contenant des cellules à caractère méristématique, siège de mitoses incessantes

et signe de la capacité de division caractérisant les points végétatifs. L'étendue de cette zone dans la direction de l'axe longitudinal est de 98 ± 5 microns. Fait suite, un tissu dont les cellules commencent à se différencier, présentant des noyaux bien individualisés et très visibles après coloration à l'hématoxyline de Regaud. Ce tissu donne ainsi naissance ultérieurement aux cellules de la moelle de la pousse en question.

Vers la première semaine du mois de mai, période correspondant à la pleine floraison (stade F2 selon Fleckinger), deux catégories de pousses se distinguent par l'allongement des entre-nœuds donnant les futures pousses courtes et les futures pousses longues. La limite permettant de différencier ces deux structures est la longueur de 30 mm (**Figures 2-A2 et 2-A3**).

En ce qui concerne l'activité organogénétique, le méristème de la pousse longue a formé 12 pièces (6 feuilles et 6 primordia de feuilles) tandis que 4 à 5 feuilles sont bien déployées sur la pousse courte et sont considérées comme assimilatrices. Le développe-

ment foliaire est plus important sur la pousse longue et c'est l'ensemble foliaire d'ordre 2 qui atteint le maximum de longueur (82 ± 15 mm). Pour la pousse courte, c'est la première feuille qui est la plus développée avec une longueur moyenne de 74 ± 8 mm.

Quant à l'élongation internodale, elle est plus accentuée pour les pousses longues dont les premiers entre-nœuds, d'ordre 1 et 2, peuvent atteindre une longueur moyenne respective de $12,4 \pm 6,6$ mm et $15,4 \pm 6,1$ mm alors que ceux de la pousse courte ne dépassent pas 5 mm.

Les sections longitudinales axiales effectuées sur la partie apicale de la pousse de bourse nous permettent également de distinguer les 2 types de pousses à la première semaine du mois de mai. Les **figures 2-B2 et 2-B3** nous montrent qu'il n'y a pas de différence notable dans la structure des apex. Signalons que l'allongement internodal et l'activité mitotique des cellules de la zone médullaire sont plus importants au niveau de la pousse longue. Les dimensions des cellules de cette zone sont sensiblement similaires et

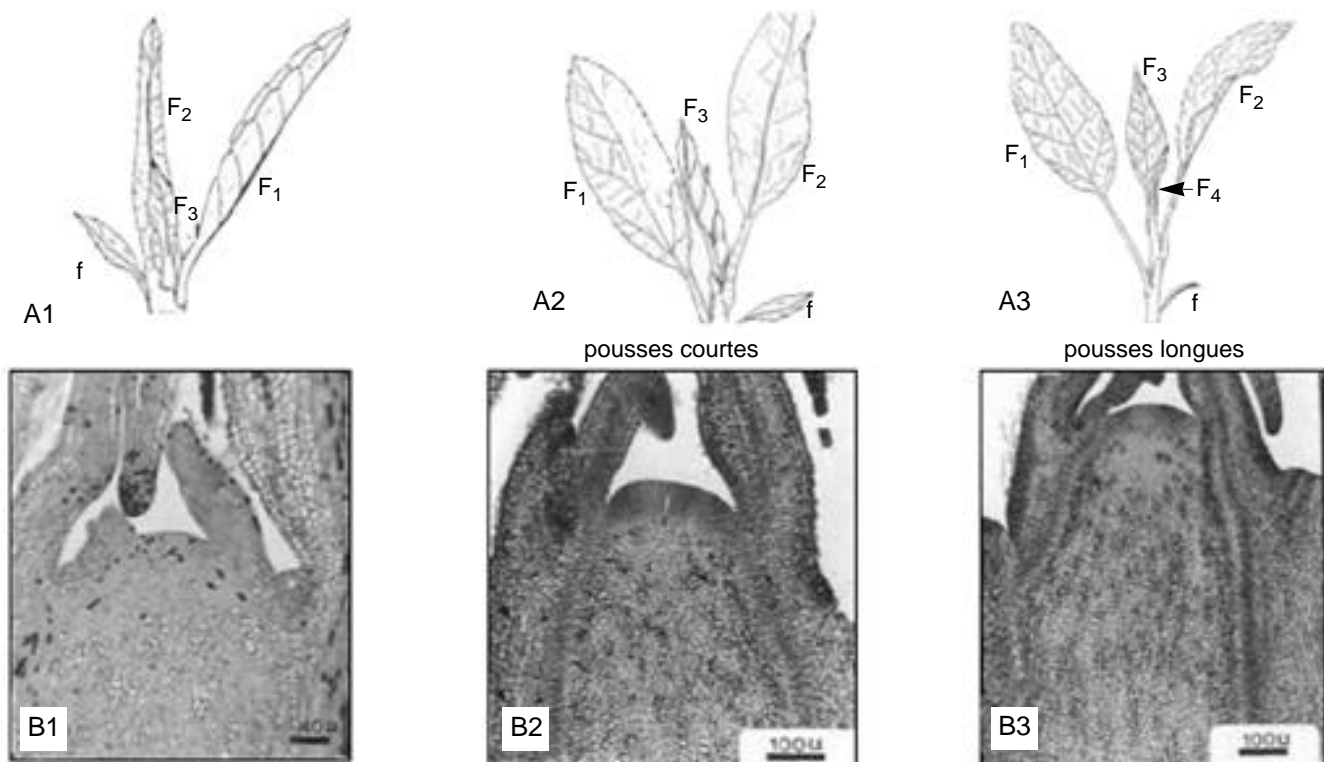


Figure 2. Les premiers stades du développement de la pousse de bourse de la 3^e semaine du mois d'avril au début du mois de mai montrant l'aspect morphologique (A) et histologique (B) : A1 = état de développement de la pousse de bourse 15 jours après débourrement ; A2 et A3 = distinction (début mai) entre deux types de bourses : pousses courtes (A2) et pousses longues (A3). Photos B1, B2 et B3 = structures histologiques correspondantes montrant qu'il n'y a pas de différence dans la taille des cellules de la zone médullaire entre pousses courtes (B2) et pousses longues (B3) — *First stages of the development of bourse shoots from the 3rd week of April to the beginning of May showing morphological (A) and histological (B) aspects: A1 = development of bourse shoot 15 days after budding; A2 and A3 = distinction between 2 types of bourse shoots: short shoots (A2), and long shoots (A3), in the beginning of May; B1, B2 and B3 = histological studies; there is no difference in the dimensions of the medullary cells between short shoots (B2) and long shoots (B3).*

de l'ordre de 12 à 16 μm pour les deux types de pousses. La différence d'allongement internodal observée entre les deux catégories de pousses serait donc due à une différence du nombre de cellules plutôt qu'à leur taille. Il nous a été difficile d'estimer le nombre moyen de cellules formant les différents entre-nœuds à cause de la phyllotaxie spiralée du pommier ; ce qui ne permet pas d'avoir tous les nœuds dans un même plan de coupe. Ces observations rejoignent les premières observations de Crabbé (1987) selon lesquelles la variation internodale est due à la différence du nombre de cellules plutôt qu'à leur taille. Les travaux de Cottignies (1985) sur le Frêne et ceux de Brown et Sommer (1992) sur quelques espèces ligneuses, dont *Quercus rubra* L. et *Pinus taeda* L., confirment que la longueur finale des entre-nœuds est fortement corrélée au nombre de cellules.

3.2. Croissance végétative de la pousse de bourse (du début mai jusqu'à la formation du bourgeon terminal)

L'évolution ultérieure de la pousse de bourse, en termes d'allongement et d'activité organogénétique (élongation foliaire et internodale), se poursuit tout au long de la phase végétative jusqu'à l'arrêt de la croissance coïncidant avec le début de la formation du bourgeon terminal. Cet arrêt a lieu vers la fin du mois de mai (40 à 45 jours après le débourrement) pour les pousses courtes et le début du mois de juillet (85 à 90 jours après le débourrement) pour les pousses longues. Les **figures 3** et **4** illustrent cette évolution permettant de distinguer les deux catégories de pousses.

Croissance végétative des pousses courtes. Les **figures 3A à C** illustrent les activités d'organogenèse et d'allongement ainsi que les profils morphométriques en début (5 mai) et en fin de croissance (fin juin) de la pousse de bourse courte. Elles montrent des activités d'allongement et d'organogenèse moins intenses que celles observées sur la pousse longue. La pousse courte a une croissance limitée puisque la longueur moyenne finale ne dépasse pas les $20 \pm 6\text{mm}$ (**Figure 3A**). Cette élongation qui est assurée surtout par l'allongement des entre-nœuds (EN) d'ordre 2, 3 et 4 (**Figure 3C**), s'arrête, en réalité à la fin du mois de mai, période correspondant au début de la formation des premières écailles du bourgeon terminal, alors que l'activité organogénétique continue. Cette activité s'étale tout au long de la période estivale afin de former les différentes structures constituant le bourgeon terminal.

En début de croissance, les pousses courtes portent 10 pièces dont 4 jeunes feuilles et 6 primordia foliaires. L'allongement, à ce moment, est assuré par les 3 premiers entre-nœuds de la base (**Figure 3B**)

permettant une longueur de 10 mm. À l'arrêt de la croissance, le méristème apical a déjà formé 13 à 14 pièces dont 7 assimilatrices avec des entre-nœuds très réduits (**Figure 3C**).

Croissance végétative des pousses longues. D'autres catégories de pousses continuent leurs activités d'allongement et d'organogenèse au-delà de la fin du mois de mai, pour s'arrêter à la mi-juillet, atteignant une longueur moyenne de 413 ± 59 mm avec la formation de $25 \pm 1,5$ structures végétatives (**Figure 4A**).

L'activité organogénétique au niveau du méristème de la pousse, après un fléchissement (vers le début du mois de mai), voit son plastochrone réel s'accroître de 6 à 12 jours ; on assiste ensuite à une accélération de l'organogenèse avec un plastochrone réel très court variant de 1,5 à 3,3 jours jusqu'à la 2^e quinzaine de juin où il atteint la valeur de 5 à 6 jours. Au-delà de ce cap, on assiste de nouveau à un raccourcissement du plastochrone (valeur comprise entre 4 à 5 jours) et donc à une légère accélération de l'organogenèse.

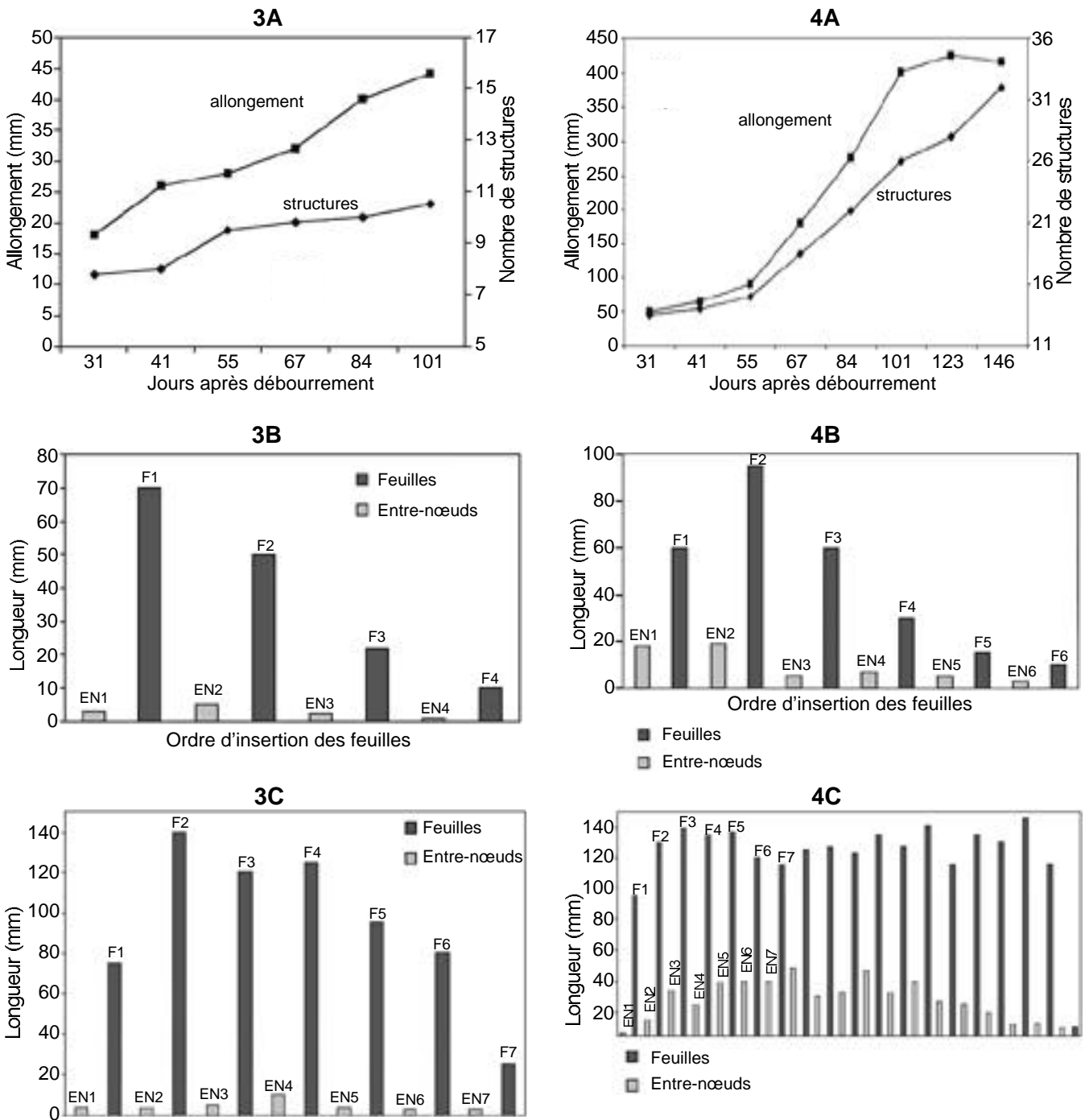
Les deux ralentissements de l'organogenèse correspondent à des événements physiologiques touchant les pousses de bourse que l'on peut décrire comme suit :

- le premier ralentissement coïncide avec la ségrégation de deux catégories de pousses : les futures pousses courtes et les futures pousses longues vers le début du mois de mai ;
- le deuxième ralentissement qui maintient la valeur du plastochrone réel aux environs de 5 à 6 jours correspond à l'apparition de l'hétéroblastie au niveau des pousses de bourse longues.

L'élongation de ce type de pousses est assurée par l'élongation internodale tout au long de l'axe de la tige, variant de 20 à 40 mm.

Pendant le premier stade de développement de la pousse longue, ce sont les entre-nœuds de la base qui sont les plus développés (**Figure 4B**). Au fur et à mesure de leur évolution, ce sont ceux de la partie médiane qui montrent le développement le plus marqué pour atteindre des longueurs moyennes variant de 30 à 40 mm alors que les entre-nœuds de la partie distale sont relativement réduits (de l'ordre de quelques millimètres)

Les entre-nœuds de la pousse longue ont des longueurs allant de 2 à 47 mm et ce, indépendamment de l'élongation foliaire (**Figure 4C**). Ainsi un maximum d'élongation foliaire peut correspondre soit à un entre-nœud réduit, soit à un entre-nœud allongé. Les feuilles ont également des longueurs très variables passant de 90 mm au niveau de la base de la pousse à 120 mm au niveau de la partie médiane et de 130 mm dans la partie distale.



Figures 3 et 4. Activités d’organogénèse et d’allongement (A) et profil morphométrique en début (B) et en fin (C) de croissance végétative de la pousse courte (**Figures 3**) et de la pousse longue (**Figures 4**) de bourse — *Organogenesis and elongation activities (A) and morphometric profiles at the start (B) and the end (C) of the vegetative growth of the short (Figures 3) and the long (Figures 4) bourse shoots.*

A : Allongement en mm de la pousse de bourse courte (**3A**) et de la pousse de bourse longue (**4A**) et activité organogénétique exprimée en nombre de structures formées (feuilles, écailles et primordia) par le méristème apical — *Short (3A) and long (4A) “bourse” shoots and organogenetic activity determined by the number of structures formed by the apical meristem.*

B : Profils morphométriques, en début de croissance végétative, illustrés par l’allongement des feuilles (F) et des entre-nœuds (EN) correspondants (échantillon représentatif) — *Morphometric profiles at the start of the vegetative growth, illustrated by the elongation of leaves (F) and internodes (EN).*

C : Profils morphométriques en fin de croissance de la pousse de bourse courte (**3C**) et longue (**4C**) illustrés par l’allongement des feuilles (F) et des entre-nœuds (EN) correspondants (échantillon représentatif) — *Morphometric profile of the short (3C) and the long (4C) “bourse” shoots, at the end of the vegetative growth, illustrated by the elongation of leaves (F) and internodes (EN).*

Allongement foliaire des 2 types de pousses de bourse. Les courbes relatives à l'élongation foliaire en fonction du temps suivent la même allure pour les deux catégories de pousses. Chaque élongation s'inscrit dans une courbe de type sigmoïde dont le début est marqué par une croissance progressivement accélérée suivie d'une phase d'augmentation rapide permettant à la feuille d'atteindre sa taille adulte et enfin terminée par un ralentissement et une stabilisation de la longueur. Ce schéma est identique pour presque toutes les feuilles mais légèrement décalé dans le temps en fonction de leur apparition et de leur vitesse de développement. Pour les pousses courtes, l'évolution de la croissance foliaire montre qu'à l'arrêt de la croissance, les 6 premières feuilles évoluent normalement alors que la 7^e entame un début d'allongement qui sera freiné par sa transformation en écaïlle : signe de la formation du bourgeon terminal. Il est important de signaler que ces 6 à 7 structures développées correspondent aux structures préformées par le méristème du bourgeon de bourse pendant sa croissance gemmaire.

Pour les pousses longues, les feuilles d'ordre 16 à 20 se développent en fin de la période de croissance (à partir de la 2^e quinzaine du mois de juin) et n'achèvent pas leur expansion. Celles d'ordre 2 et 3 sont les plus développées alors que la première atteint dans la plupart des cas des longueurs inférieures à celles qui la suivent.

Aspect anatomique du méristème apical lors de l'organogenèse. L'origine des différentes structures (feuilles, primordia et entre-nœuds) de la pousse de

bourse étant le méristème apical, nous traitons, dans ce qui suit, de son activité organogénétique et des modifications anatomiques et morphologiques touchant les zones avoisinantes, lors de l'expansion de l'axe de la pousse de bourse (aussi bien pour les pousses longues que pour les pousses courtes).

Différenciation des primordia foliaires et des bourgeons axillaires. L'étude anatomique des pousses en croissance nous a permis de suivre la formation et l'évolution des primordia foliaires. Le fonctionnement de l'anneau initial du méristème apical, au cours de la croissance végétative, produit les primordia dont l'évolution aboutira à la formation de jeunes feuilles. Les premières modifications anatomiques sont observées au niveau des cellules de la couche externe (**Figure 5A**) qui se divisent seulement selon le mode anticline, alors que la couche interne se divise aussi bien selon le mode péricline qu'anticline. Régulièrement et selon le rythme plastochronal, des excroissances correspondant aux initia apparaissent au niveau de la tunica et commencent à se développer donnant les ébauches de feuilles. C'est la zone la plus externe de la tunica qui évolue en épiderme de feuille.

Ces mêmes coupes histologiques nous permettent d'observer à l'aisselle du primordium foliaire le plus développé (**Figure 5B**) une activité cellulaire intense qui sera à l'origine du développement du bourgeon axillaire. Les cellules de cette zone ne tardent pas à s'organiser en prenant le même aspect que le méristème apical avec une zonation spécifique.

La première différenciation morphologique discernable des ébauches foliaires consiste en un

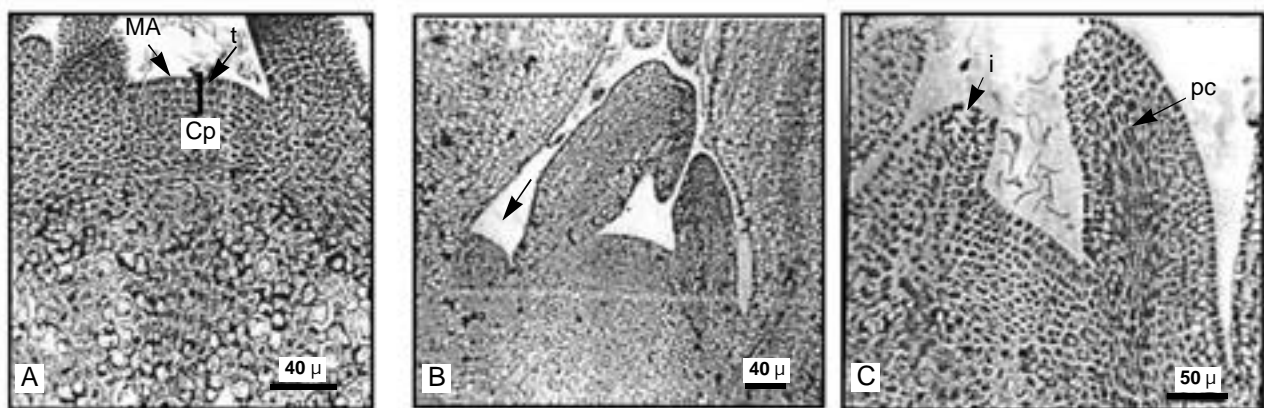


Figure 5. Sections longitudinales axiales du point végétatif au cours de l'élongation de la pousse de bourse montrant – **A** : l'hétérogénéité structurale du méristème apical axial (MA) ; la tunica à 4 assises cellulaires (t), le corpus (Cp), l'anneau initial (Ai) et le méristème médullaire situé en position subapicale – **B** : le début de formation des structures gemmaires axillaires ayant une localisation foliaire (flèche) – **C** : section longitudinale axiale montrant la surrection d'un initium (i) formé de cellules méristématiques et l'apparition précoce du procambium (pc) — *Longitudinal axial sections of the vegetative point during the "bourse" shoot elongation showing – A: the structure heterogeneity of the apical meristem (MA); the tunica with 4 cell layers (t); the corpus (Cp); the initial ring (Ai) and the medullar meristem in the subapical position – B: the beginning formation of the axillary structures with a foliar localization (arrow) – C: longitudinal section showing the differentiation of an initium (i) mode of meristematic cells and the early appearance of the procambium (pc).*

étranglement divisant l'ébauche en une partie relativement étroite et une partie assez large. De l'évolution de ces deux parties naît proximale une zone relativement élargie et enveloppante constituant le pétiole et les stipules. La partie distale, par sa croissance en longueur et légèrement en largeur, donnera naissance au limbe de la jeune feuille. Le procambium apparaît très précocement lors de la 'surrection' des primordia ; il est formé de cellules étroites, au cytoplasme dense, formant un cordon continu (Figure 5C).

Histogenèse comparée au niveau de l'apex des pousses courtes et des pousses longues. Nos observations effectuées sur l'histogenèse de la pousse de bourse sont similaires et valables pour les deux catégories étudiées. En effet, pendant la phase de croissance végétative, le point végétatif de la pousse de bourse, protégé par les dernières structures initiées, se présente comme un dôme plus ou moins aplati, caractérisé par une hétérogénéité structurale. Il est constitué d'une tunica à 4 assises de cellules qui recouvre un massif cellulaire à disposition irrégulière formant le corpus (Figure 5A – flèche).

L'apex montre une zonation relativement bien marquée pendant la phase végétative de la pousse longue. Ainsi, on peut distinguer :

- une zone apicale axiale constituée de cellules relativement peu actives ;
- l'anneau initial de position subterminale et latérale constitué surtout de cellules tunicales de plus petite taille que celle de la zone apicale axiale, et dont l'activité mitotique intense donnera naissance successivement aux primordia de feuilles selon un rythme plastochronal variant tout au long de la phase de croissance ;
- le méristème médullaire formé de cellules aplaties vacuolisées. Des recloisements péricleines sont visibles au niveau de cette zone. Le méristème fonctionne comme un cambium en produisant, uniquement sur sa face inférieure, des cellules qui donneront le parenchyme médullaire.

Arrêt de la croissance et début de formation du bourgeon terminal. La formation du bourgeon terminal des 2 types de pousses succède à l'arrêt de la croissance de ces structures.

Pour les pousses courtes, la transformation du primordium d'ordre 7 en écaille est un signe du début de formation du bourgeon terminal. Cette transformation se réalise de la façon suivante. L'ébauche foliaire d'ordre 7 qui a déjà amorcé un début d'allongement (5 mm de longueur) présente un lobe central dont la base brunit et se dessèche. Ce dessèchement se propage dans le sens acropète, provoquant ultérieurement sa chute. C'est la partie proximale du primordium qui se

sclérifie pour se transformer en écaille. Pour les primordia qui suivent, ce phénomène touche la partie distale sans qu'il y ait allongement du lobe.

Pour les pousses longues, la formation des écailles du bourgeon terminal se fait progressivement au début juillet. Le brunissement et la lignification vont toucher en premier le 21^e ou 22^e primordium au niveau de sa partie distale avant que le lobe central ne commence à croître (Figure 6). À ce stade, le primordium ne dépasse pas 3 mm de longueur. Ce qui n'est pas le cas des primordia qui suivent (d'ordres 23 à 27) qui, au début de leur développement, ont un aspect morphologique normal sans brunissement de la partie distale.

Ainsi on peut conclure que la formation des écailles du bourgeon terminal des pousses courtes a lieu brusquement au niveau du 7^e primordium et progressivement sur les autres primordia alors qu'au niveau de la pousse longue, cette transformation est progressive aussi bien pour la première écaille que pour celles qui suivent.

3.3. État comparatif des activités d'organogenèse et d'allongement des pousses courtes et des pousses longues

On peut donc observer l'écart significatif des mensurations entre les structures les plus développées (premières feuilles formées) et les primordia nouvellement initiés par le méristème apical. La représentation logarithmique (Figures 7) de l'évolution de la longueur des feuilles

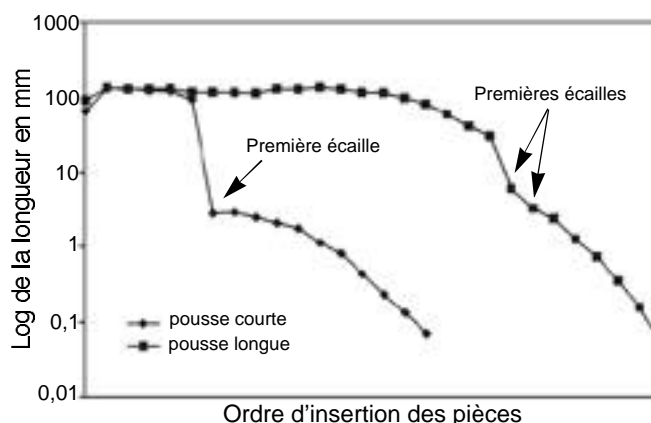


Figure 6. Représentation logarithmique de la longueur des pièces formées à l'arrêt de la croissance des pousses de bourse longues et courtes montrant la transformation brusque du 7^e primordium en première écaille pour la pousse courte et progressive, au niveau du 21^e ou 22^e primordium pour la pousse longue — *Logarithmic presentation of the length of the pieces deployed at the end of the growth of the long and the short "bourse" shoots showing the transformation of the 7th primordium into the first scale of the short shoot and the progressive transformation of the 21st of the 22nd primordium of the long shoot.*

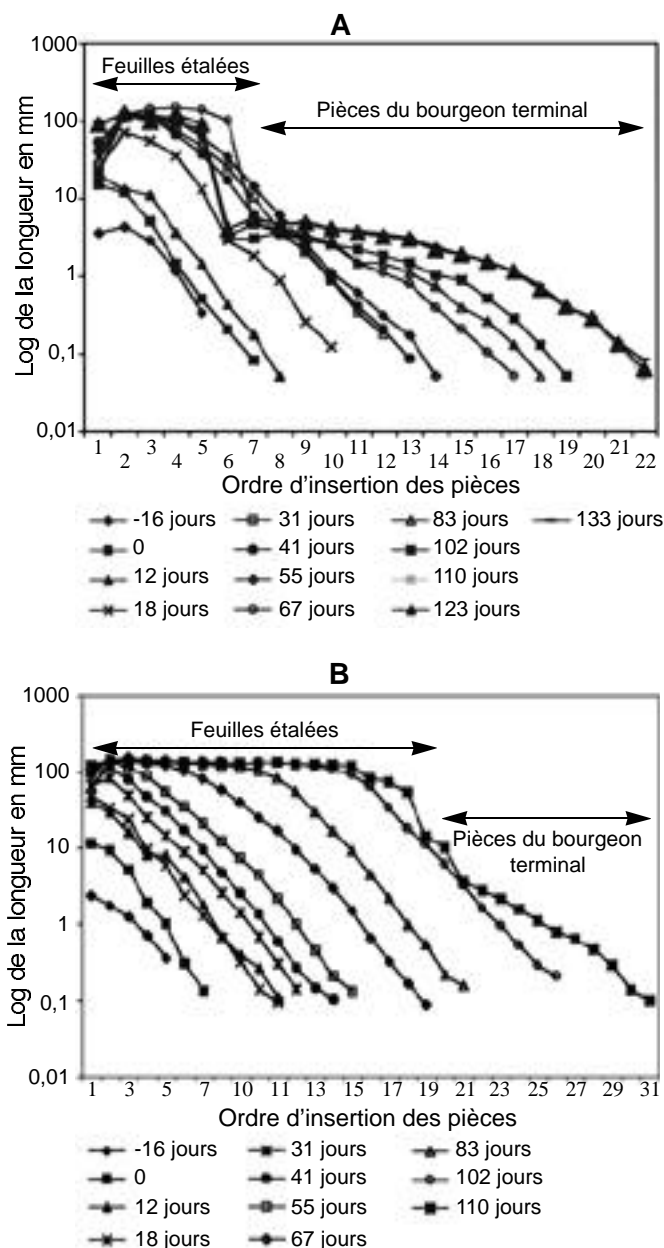


Figure 7. Représentation logarithmique de l'évolution de la longueur des feuilles, des écailles et des primordia des pousses courtes (A) et longues (B) en fonction de leur ordre d'insertion — *Logarithmic presentation of the evolution of the leaves, the scales and the primordia of the short shoots (A) and the long shoots (B) in relation to their position.*

permet d'illustrer sur un même graphique un état comparatif des activités organogénétique et d'allongement de toutes les structures formées par le méristème apical des pousses courtes (A) et longues (B) jusqu'à la différenciation florale.

Pour les pousses courtes, le méristème de la future pousse de bourse au sein du bourgeon inflorescentiel, élabore quelques pièces (5 à 6) entre l'automne et le débourrement. Cette activité organogénétique intra-

gemmaire donnera les 6 feuilles assimilatrices, alors que l'organogenèse extragemmaire donnera naissance aux différentes pièces constitutives du bourgeon terminal. Du débourrement jusqu'au début juin, tout primordium nouvellement formé par le méristème apical évoluera en écaille (Figure 7A). À l'arrêt de la croissance (fin mai-début juin), le méristème aura formé 12 à 14 pièces dont 6 feuilles étalées et 6 à 8 primordia qui vont constituer les écailles du bourgeon terminal.

Pour les pousses longues (Figure 7B), toutes les feuilles assimilatrices sont initiées avant la fin juin (date d'observation 27/6). Au-delà de cette période, et jusqu'au début août, l'organogenèse donnera naissance aux écailles protectrices du bourgeon terminal.

4. CONCLUSION

Après le débourrement, deux types de pousses de bourse se distinguent précocement (à la première semaine du mois de mai).

- Des pousses dont le contexte corrélatif n'a pas permis aux méristèmes terminaux de raccourcir leur plastochrone (pousses courtes de bourse), entraînant un ralentissement de leur activité organogénétique et les engageant dans un processus d'arrêt de la croissance. Cet arrêt est marqué par l'avortement brusque du lobe central des jeunes primordia foliaires d'ordre 6 ou 7 et le début de transformation de sa partie proximale en écaille, suivi par le non développement du lobe central des primordia foliaires suivants. Tout ceci permet à ce type de pousses de commencer précocement la formation de leur bourgeon terminal (fin mai).
- D'autres pousses au plastochrone raccourci continuent leur activité organogénétique et d'allongement jusqu'à l'arrêt de leur élongation signalé vers le début du mois de juillet (pousses longues de bourse). Cet arrêt de croissance coïncide avec une hétéroblastie progressive touchant le 21^e ou le 22^e primordium pour la formation de la première écaille du bourgeon terminal. La transformation des primordia suivants se fait de façon progressive.

Cette hétéroblastie signalée à l'arrêt de la croissance a été mise en évidence chez plusieurs espèces et ce dans des situations de transition d'une phase active à une phase de repos. Elle a été expliquée par des corrélations inter-organes par Dostal (1952), Champagnat *et al.* (1986), Escobedo (1990), Mehri (1995).

Dostal (1952) expliquait la formation de l'écaille du bourgeon terminal du marronnier par l'effet inhibiteur des jeunes feuilles en expansion qui s'accumulent sous l'apex. Fulford (1965, 1966) et

Abbott (1970) ont repris les interprétations de Dostal et en ont fait la base de l'explication de la formation des bourgeon floraux du pommier.

Les jeunes feuilles en croissance ont donc un effet sur l'activité organogénétique du méristème ; leur accumulation a pour effet de ralentir l'organogenèse au niveau du méristème apical, ce qui se traduit par un allongement du plastochrone (Fulford, 1965).

Expliquant le contrôle, par le méristème apical, de la production de primordia chez le pommier, Fulford (1965) a émis une hypothèse se basant sur une cascade d'effets inhibiteurs des différents organes (feuille âgée, jeune feuille, primordium, jeune primordium, méristème apical). L'intensité de cet effet inhibiteur va varier en fonction de l'état de développement de ces différentes structures.

L'étude anatomique a montré que la différence d'allongement internodal entre les pousses longues et courtes de bourse est due au nombre de cellules mises en place par le méristème médullaire plutôt qu'à leur taille. Ceci est en accord avec les travaux de Cottignies (1985) sur le frêne et de Brown et Sommer (1992) qui montrent que, chez un certain nombre d'espèces ligneuses, le nombre de cellules est corrélé à la longueur finale de l'entre-nœud.

Pendant la phase de croissance du méristème apical du pommier, l'édification des primordia foliaires des deux catégories de pousses est caractérisée par le fonctionnement latéral d'un anneau initial selon une phyllotaxie spiralée à angle de divergence de 135° (Abbott, 1984).

Le déterminisme de la mise en place des primordia foliaires a donné lieu à plusieurs hypothèses. La théorie de la place disponible considère que chaque nouveau primordium se place au bord de l'apex dans l'espace le plus grand laissé par les précédents. La théorie de la diffusion d'un inhibiteur postule que le méristème apical et chacun des primordia en croissance produisent une substance inhibitrice diffusible empêchant la formation de nouveaux primordia dans le voisinage immédiat. Dès que la concentration de l'inhibiteur chute sous un certain seuil en un point, un nouveau primordium naît (Roberts, 1984). Alors que la théorie des hélices foliaires multiples, développée par Plantefol (1948), faisait dépendre le lieu de l'initiation foliaire d'un stimulus issu du jeune organe initié. Selon Cottignies (1985), ces deux dernières théories ne sont pas fondamentalement différentes, puisque ni l'inhibiteur ou le système inhibant, ni le stimulus ou le système stimulant n'ont pu être mis en évidence. L'initiation foliaire semble donc (selon ces deux théories) liée aux tissus et organes sous-jacents au méristème (Cottignies, 1984, 1985).

Tout au long de la phase végétative, le méristème apical de la pousse de bourse présente une hétérogénéité structurale : l'apex, au stade d'initiation

des structures végétatives, est formé d'une zone apicale comportant :

- une tunica à 4 assises de cellules, enveloppant un massif de cellules à dispositions irrégulières formant le corpus ;
- une zone subterminale, l'anneau initial, formée de cellules très méristématiques et dont l'activité (fréquentes divisions cellulaires) donne naissance aux primordia foliaires selon un rythme plastochronal variant en fonction du contexte corrélatif.

Cette hétérogénéité structurale a été mise en évidence sur plusieurs dicotylédones par Steeves et Sussex (1989) et Lyndon (1990). Sur le pommier, nos résultats s'accordent avec les études réalisées par Buban (1970) et Buban et Faust (1982).

Bibliographie

- Abbott DL. (1962). The effect of four controlled winter temperatures on the flowering and fruiting of the apple. *J. Hort. Sci.* **37**, p. 272–284.
- Abbott DL. (1970). The role of bud scales in the morphogenesis and dormancy of the apple fruit bud. In Luckwill LC., Cutting CV. (Eds). *Physiology of tree crops*. New York: Academic Press, p. 65–80.
- Abbott DL. (1984). *The apple tree: physiology and management*. London: Growers Books, 90 p.
- Brown CL., Sommer HE. (1992). Shoot growth and histogenesis of trees possessing diverse patterns of shoot development. *Am. J. Bot.* **79** (3), p. 335–346.
- Buban T. (1970). Histologische und histochemische Untersuchung der Blütenknospendifferenzierung bei Apfelbaumen. *Tagungsber.* **99**, p. 21–34. Cité par Buban et Faust (1982).
- Buban T., Faust M. (1982). Flower bud induction in apple trees internal control and differentiation. *Hort. Rev.* **4**, p. 174–203.
- Champagnat P., Payan M., Barnola S., Laverenne, Bertholon C. (1986). La croissance rythmique de jeunes chênes pédonculés cultivés en conditions contrôlées et uniformes. Comptes-rendus du colloque international sur l'arbre. Montpellier 9–14 septembre 1985. *Naturalia Monspel.* N° Spécial, p. 303–337.
- Cottignies A. (1984). Visualisation des centres générateurs selon la théorie phyllotaxique de Plantefol, dans le point végétatif du Frêne (*Fraxinus excelsior* L.). *Can. J. Bot.*, **62**, p. 2636–2643.
- Cottignies A. (1985). *Dormance et croissance active chez le Frêne* (*Fraxinus excelsior* L.). Thèse de doctorat d'État ès Sciences Naturelles. Université P. et M. Curie – Paris 6.
- Crabbé J. (1987). *Aspects particuliers de la morphogénèse*

- caulinaire des végétaux ligneux. Introduction à leur étude quantitative.* Bruxelles : IRSIA, 116 p.
- Dostal R. (1952). Experimental morphogenesis of buds in the Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). Cité par Sebanek J. (1985) : Scientific heritage of prof. Dostal for the development of experimental plant morphology. *Acta Univ. Agric. Brno.* **33** (3), p. 25–69.
- Escobedo JA. (1990). *Étude de la transformation florale des bourgeons de la pousse de "bourse" du pommier (Malus x domestica Borkh. cv Golden Delicious) : activité plastochronale et contexte corrélatif associé.* Thèse de doctorat. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique), 160 p.
- Forshey CG., Weires RW., Stanley BH., Seem RC. (1983). Dry weight partitioning of "McIntosh" apple trees. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **108**, p. 149–154.
- Forshey CG., Weires RW., Vankirk JR. (1987). Seasonal development of the leaf canopy of "Macspur McIntosh" apple trees. *HortScience* **20**, p. 881–883.
- Forshey CG., Elfving DC. (1989). The relationship between vegetative growth and fruiting in apple trees. *Hort. Rev.* II, p. 229–287.
- Fulford RM. (1965). The morphogenesis of apple buds. I. The activity of apical meristem. *Ann. Bot. N.S.* **29**, p. 167–180.
- Fulford RM. (1966a). The morphogenesis of apple buds. II. The development of the bud. *Ann. Bot. N.S.* **30** (117).
- Fulford RM. (1966b). The morphogenesis of apple buds. III. The inception of flowers. *Ann. Bot., N.S.* **30** (118).
- Fulford RM. (1966c). The morphogenesis of apple buds. IV. The effect of fruit. *Ann. Bot. N. S.* **30** (120).
- Hansen P. (1977). Carbohydrate allocation. In Landsberg JJ., Cutting CV. (Eds). *Environmental effects on crop physiology.* London: Academic Press.
- Huet J. (1972). Étude des effets des feuilles et des fruits sur l'induction florale des brachyblastes du poirier. *Physiol. Vég.* **10** (3), p. 529–545.
- Johansen DA. (1940). *Plant microtechnique.* New-York: McGraw-Hill, 523 p.
- Johnson RS., Lakso AN. (1986a). Carbon balance model of a growing apple shoot: I. Development of the model. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **111**, p. 160–164.
- Johnson RS., Lakso AN. (1986b). Carbon balance model of a growing apple shoot: II. Simulated effects of light and temperature on long and short shoots. *J. Soc. Hort. Sci.* **111**, p. 164–169.
- Lyndon RF. (1990). *Plant development: The cellular basis.* Winchester, MA: Unwin Hyman.
- Mehri H. (1995). *Étude morphologique et histologique de la transition florale des apex des pousses de "bourse" du pommier (Malus x domestica Borkh. cv Golden Delicious).* Thèse de doctorat. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique) 170 p.
- Plantefol L. (1948). *La théorie des hélices foliaires multiples.* Paris : Masson, 513 p.
- Roberts DW. (1984). A chemical contact pressure model for phyllotaxy. *J. Theor. Biol.* **108**, p. 481–490.
- Steeves TA., Sussex IM. (1989). *Patterns in plant development.* New-York: Cambridge University Press, p. 176–202.

(29 réf.)