

# Processus de développement génératif chez le pommier cv Golden Delicious

Hechmi Mehri <sup>(1)</sup>, Jacques Crabbé <sup>(2)</sup>

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

<sup>(2)</sup> 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.

Grâce aux techniques histologiques, aux microdissections des apex et aux observations au microscope électronique à balayage, nous avons suivi sur le cultivar Golden Delicious et dès l'arrêt de la croissance végétative, l'organogenèse du méristème de la pousse de bourse, et les modifications morphologiques et histologiques liées à la transition florale du méristème de l'état végétatif vers l'état inflorescenciel puis floral. Il ressort que l'acquisition par le méristème apical de l'état reproducteur s'est faite progressivement et selon deux étapes. 1. Une phase végétative durant laquelle le méristème apical commence à former le bourgeon terminal au sein duquel la différenciation florale aura lieu. La mise en place par le méristème apical d'une certaine quantité de structures végétatives est nécessaire avant l'apparition du premier signe de la transition florale au niveau de l'apex de la pousse de bourse. 2. Une phase de différenciation inflorescencielle, puis florale, dont le début est marqué par le gonflement de la zone apicale axiale du méristème de la pousse de bourse du pommier, première manifestation morphologique visible de la transition du méristème de l'état végétatif vers l'état floral, observée à la fin juillet pour les pousses courtes et un mois plus tard pour les pousses longues. Cependant, l'apex est appelé à évoluer en inflorescence ayant à la fois des structures végétatives (bourgeon de bourse, primordia foliaires, bractées) et génératives (fleur terminale et fleurs latérales).

**Mots-clés.** Bourgeon, différenciation, plastochrone, transition florale, pommier.

**Generative development process of apple cv Golden Delicious.** The meristem organogenesis of the "bourse" shoot, the morphologic and the histologic modifications were studied at the end of the growth stopping by means of histological techniques, microdissections of the apex and observations by scanning electron microscopy. These modifications are linked to the transition of the meristem from vegetative to flowering stage. The acquisition of the reproductive stage by the apical meristem occurs progressively in 2 phases. 1. A vegetative phase during which the apical meristem begins to form the terminal bud where floral differentiation occur. The presence of a number of structures is necessary before the first sign of floral transition appears within the apex of the "bourse" shoot. 2. A floral differentiation phase which begins by the swelling of the "bourse" shoot apical meristem at the end of July for short shoots and one month later for long shoots. This apex will produce at the same time vegetative (bourse bud, leaf primordial, scale) and generative (terminal and lateral flowers) structures.

**Keywords.** Buds, differentiation, plastochrone, floral transition, apple tree.

## 1. INTRODUCTION

Le passage de l'état végétatif vers l'état floral est considéré comme l'une des étapes les plus importantes de l'ontogenèse d'un végétal. Ce qui a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs et a fait l'objet de nombreux travaux. Selon Jackson et Sweet (1972) et Kramer et Kozlowski (1979), le passage des méristèmes de l'état végétatif vers l'état floral semble être contrôlé par des corrélations endogènes (Borchert, 1983) et des facteurs de l'environnement. Les corrélations peuvent être de nature hormonale ou métabolique et agir de manière localisée ou à distance via le système vasculaire (Bodson, 1989), alors que les facteurs de

l'environnement auraient un effet indirect en agissant sur les périodes de repos et d'activité des bourgeons.

La formation des fleurs chez les espèces fruitières passe par trois phases essentielles : l'induction suivie de l'évocation florale, l'initiation des primordia floraux et enfin la différenciation et la croissance des ébauches florales. Chacune de ces phases est contrôlée par des processus internes et externes spécifiques.

Plusieurs conceptions ont été développées quant à la nature de l'induction florale dont la théorie hormonale (Luckwill, 1970, 1974), trophique (Sachs, 1977 ; Williams, 1981 ; Sachs, Hackett, 1983 ; Raper *et al.*, 1988), et plastochronale (Fulford, 1966a, b, c ; Abbott, 1977, 1984 ; Crabbé, 1987, 1991). Ces

conceptions se complètent probablement plus qu'elles ne s'excluent mutuellement. Pour Bernier (1988) et Bernier *et al.* (1993), le processus de la mise à fleurs est sous un contrôle multifactoriel.

Le pommier est l'une des espèces qui ont le plus profité des travaux ayant trait à la transformation florale (Fulford 1965, 1966a, b, c ; Abbott, 1970 ; Luckwill, 1974 ; Buban, Faust, 1982 ; Escobedo, 1990 ; Crabbé, Escobedo, 1991). Buban et Simon (1978) indiquent que lors de la transition florale, le méristème de pommier est le siège de plusieurs changements de nature cytochimique, histologique et morphologique. L'étude cytochimique a montré qu'il y a une relation étroite entre la différenciation des bourgeons floraux du pommier et la synthèse de l'ARN (Schmidt, 1978). Du point de vue histologique, la transition vers l'état floral se manifeste par une prolifération cellulaire touchant toutes les parties de l'apex, ce qui conduit à l'effacement de la zonation qui caractérisait l'état végétatif.

L'initiation florale est contrôlée par des processus physiologiques complexes, l'époque de sa réalisation semble varier en fonction du cultivar et des conditions de culture particulières, notamment l'irrigation et la sévérité de la taille qui ont pour effet de retarder la période de différenciation florale. Elle peut aussi varier en fonction de la nature de la ramification et de l'état de fructification de l'arbre. Tromp (1968) mentionna que la différenciation florale est possible en fin d'été sur des arbres sans fruits, alors que les arbres porteurs de fruits différencient leurs fleurs précocement avant l'installation d'une inhibition provoquée par la présence de fruits.

Grâce aux techniques histologiques, aux microdissections des apex et aux observations au microscope électronique à balayage (MEB), nous avons suivi dès l'arrêt de la croissance végétative du pommier cv Golden Delicious, l'organogenèse du méristème de la pousse de bourse, et les modifications morphologiques et histologiques liées à la transition florale du méristème de l'état végétatif vers l'état inflorescenciel puis floral.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1. Matériel végétal

Tous nos 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

### 2.2. Méthodes

**Étude de la transformation florale.** À l'arrêt de la croissance (qui a lieu vers la fin du mois de mai pour les pousses courtes et vers la fin du mois de juillet pour les pousses longues), nous avons suivi la transformation et les modifications morphologiques et histologiques touchant le méristème apical des 2 types de pousses de bourse. Pour ceci, 10 pousses de chaque catégorie ont été choisies à intervalle régulier de 4 à 5 jours. La microdissection des bourgeons terminaux et axillaires suivie de la technique de prise d'empreintes et de l'examen au MEB, nous a permis de suivre la morphologie du méristème lors de son passage de l'état végétatif à l'état floral. Pour étudier la genèse des structures florales formées et l'élongation de l'axe inflorescenciel, la technique de fixation des bourgeons suivie des coupes sériées a été utilisée.

**Dissection des échantillons et techniques histologiques.** 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.

L'étude histologique a été élaborée selon les différents stades ontologiques pendant le repos hivernal et pendant les périodes d'arrêt de croissance.

Après fixation, déshydratation et imprégnation à la paraffine des échantillons, des coupes sériées d'épaisseur 4 à 8 microns, ont été réalisées et colorées à l'hématoxyline de Heldenhein (Gabe, 1968).

**Techniques de prise d'empreintes des apex méristématiques.** La technique de prise d'empreintes développée par Williams et Green (1988) a été utilisée avec quelques modifications (Mehri *et al.*, 1994) afin de suivre la morphologie végétative et florale des pousses de bourse du pommier. Le principe de cette méthode repose sur l'utilisation d'élastomères de silicone mis au point pour l'élaboration d'empreintes dentaires. Elle nécessite les traitements suivants :

*Microdissection.* Les échantillons prélevés sont disséqués le jour même de leur prélèvement, sous binoculaire stéréoscopique. Pour mettre à nu la zone apicale, toutes les structures végétatives (écailles, ébauches de feuilles transitoires, de vraies feuilles et de bractées) protégeant la zone méristématique ont été enlevées grâce à des instruments de microchirurgie montés sur des micromanipulateurs.

*Réalisation des moules.* On dépose un mélange homogène à parts égales de la résine et de son catalyseur, du

vinyle polysiloxane (produit KERR à basse viscosité), sur la partie disséquée de l'apex, au moyen de fines aiguilles. Cette manipulation se fait sous binoculaire pour vérifier le recouvrement des pièces concernées. De légères pressions sont faites, lors du recouvrement, afin de chasser d'éventuelles bulles d'air. Les échantillons ainsi préparés sont mis dans une position verticale à la température du laboratoire. La polymérisation s'effectue après 5 minutes. La capsule recouvrant le méristème s'enlève facilement et on obtient ainsi un moule qui a pris toutes les formes du méristème original. Le moule obtenu est ensuite collé sur une lame à l'aide du même produit KERR mais à moyenne viscosité.

*Préparation de la copie du méristème.* Pour faire une copie du méristème, on procède au remplissage du moule avec un mélange composé de deux produits, à des quantités égales, de résine d'époxy et son catalyseur (produits DEYCON<sup>2</sup>-Ton Epoxy) qu'on dépose sur la surface d'une lame de verre bien propre. On mélange à l'aide d'une très fine spatule avec le plus grand soin en veillant à ne pas créer des bulles d'air qui peuvent constituer des obstacles à l'observation au MEB. Le mélange sera introduit soigneusement dans le moule préparé précédemment tout en évitant la présence des bulles d'air emprisonnées dans les empreintes de primordia.

La polymérisation se fait après 24 heures à la température du laboratoire. On obtient ainsi une copie du méristème qu'il faut extraire du moule avec précaution. Cette copie sera collée sur un support métallique pour observation au MEB en utilisant un mélange de deux produits (base et catalyseur) de gel d'époxy.

*Métallisation et observation au MEB.* La métallisation est une opération indispensable à l'observation au MEB ; elle dépend de la nature et de la forme de l'échantillon, de la conductibilité du métal et de la durée de l'opération. La copie de l'apex obtenue est métallisée par évaporation sous vide ( $5 \cdot 10^{-5}$  Torr) en deux étapes : dépôt de carbone pendant 8 secondes puis dépôt d'une fine couche d'or-palladium (60 % or et 40 % palladium) pendant 12 secondes. L'observation des échantillons a été réalisée au MEB de marque JEOL "J.S.M. 50 A." à une tension d'accélération de 25 kV, et à une distance de 13 mm.

### 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

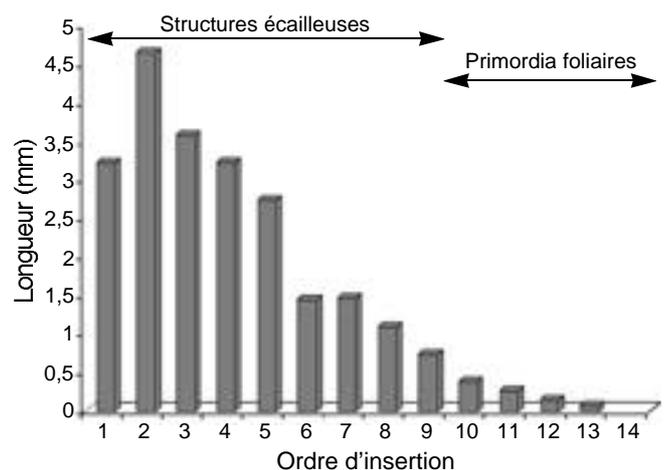
#### 3.1. Formation du bourgeon terminal de la pousse de bourse

À l'arrêt de l'élongation de la pousse courte de bourse, le méristème apical entame la formation du bourgeon terminal par une lignification du 7<sup>e</sup> primordium, formant ainsi la première écaille.

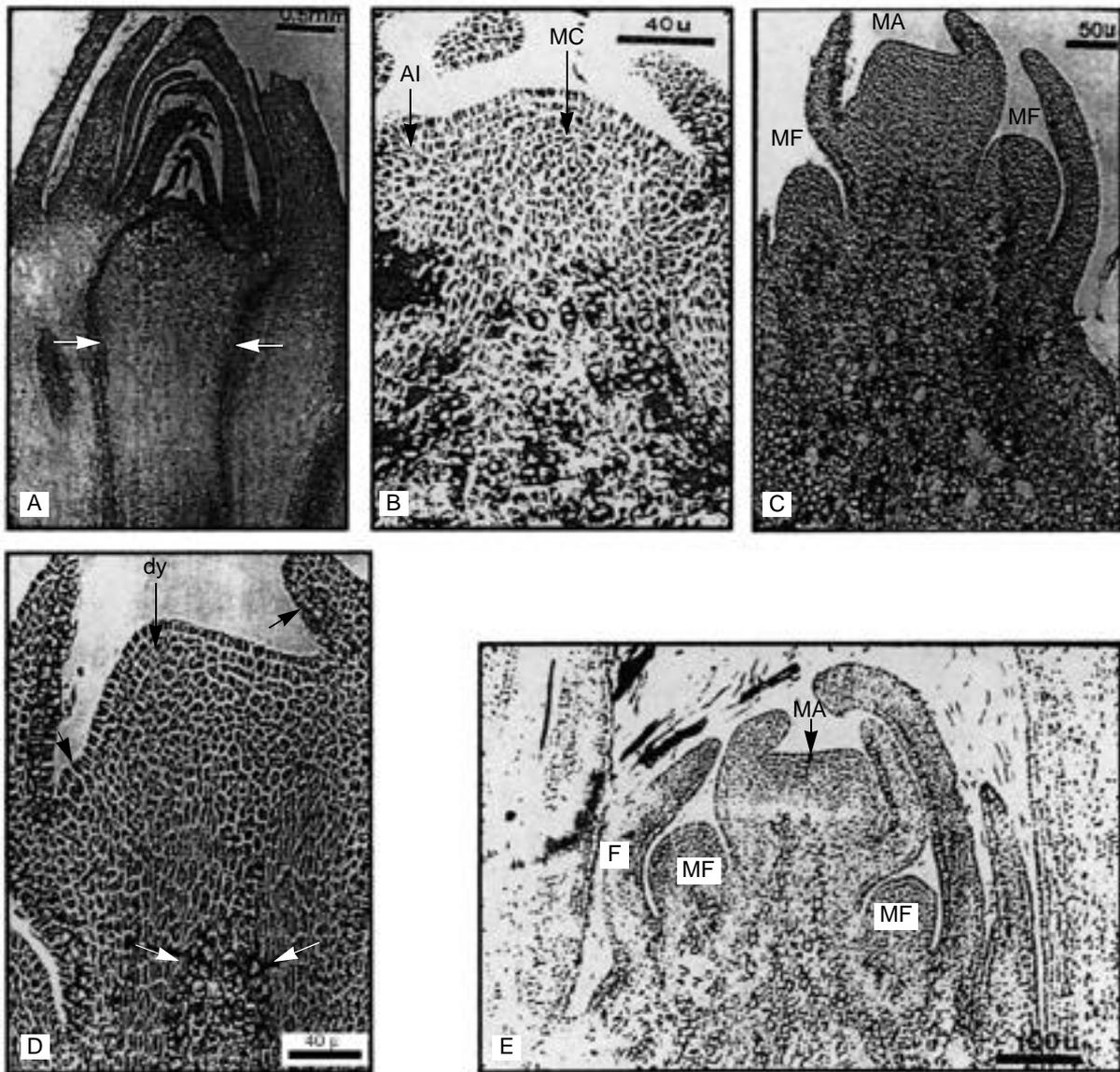
Vers la mi-juin, les 9 pièces qui évolueront ultérieurement en écailles sont initiées, suivies de la formation des primordia foliaires (ébauches de feuilles transitoires et de feuilles vraies). L'organogenèse qui était très active pendant la phase de croissance végétative, avec un plastochrone de 3 jours, se ralentit brusquement (plastochrone atteignant 6 à 8 jours). Ce qui permet l'initiation chaque semaine d'un nouveau primordium, de manière à avoir vers la fin du mois de juin, 12 à 13 pièces initiées au niveau du bourgeon terminal (**Figure 1**). Les 9 premières évolueront en écailles, les suivantes en primordia.

Il ressort donc que l'activité du point végétatif se maintient après arrêt de l'élongation afin de construire le bourgeon terminal. Cette nouvelle activité est marquée histologiquement (**Figure 2A**) par un raccourcissement de la zone méristématique apicale (74  $\mu\text{m}$  de profondeur selon le plan de coupe alors qu'elle était de 136  $\mu\text{m}$  pendant la phase de croissance active) ; le méristème médullaire fournit des cellules très vacuolisées, qui se différencient précocement, laissant apparaître entre elles des lacunes dont le nombre et la taille augmentent au fur et à mesure de l'évolution du bourgeon terminal.

Au niveau de la zone médullaire et à une profondeur d'environ 600  $\mu\text{m}$ , une limite (**Figure 2A**, flèches) est observée séparant deux types de cellules différentes par leur taille et leur forme. Au-dessus de cette limite, les cellules médullaires sont de forme arrondie et de diamètre variant de 12 à 20  $\mu\text{m}$  alors qu'en dessous, les cellules sont plutôt allongées (dans le sens de l'allongement général de la tige) avec des dimensions variant de 20 à 25  $\mu\text{m}$  de largeur et de 33 à 62  $\mu\text{m}$  de longueur. Cette limite marque l'arrêt de l'élongation internodale au niveau du bourgeon terminal. Il semble qu'à ce niveau, le grandissement



**Figure 1.** Profil morphométrique du bourgeon terminal d'une pousse de "bourse" courte à la fin du mois de juin — *Morphometric profile of a terminal bud of the short "bourse" shoot at the end of June.*



**Figure 2.** Aspect anatomique du bourgeon terminal de la pousse courte de bourse. **A.** À la fin du mois de juin, il y a accumulation au niveau de la zone apicale de toutes les structures formées, début de parenchymatisation de la zone médullaire et apparition d'une limite séparant deux types de cellules selon leur taille (flèches). **B.** Au début du mois d'août, début de gonflement du dôme, au niveau du méristème central (MC) ; AI = anneau initial. **C.** Les méristèmes floraux (MF) à la mi-août se caractérisent par une intense activité cellulaire au niveau de leur partie centrale. **D.** Dissymétrie au niveau du méristème apical, marquant 1) la continuation de l'activité de l'anneau initial ; 2) les premiers stades de la naissance d'une structure axillaire gemmaire (à localisation caulinaire) ; et enfin 3) une régression foliaire marquée par une vacuolisation précoce des cellules du dernier primordium formé (flèches) (à la mi-août). **E.** Le méristème apical entame, à la 3<sup>e</sup> semaine du mois d'août, la formation de la fleur terminale. Les méristèmes floraux (MF) ont une structure en dôme leur permettant l'évolution vers la floraison, sans passer par une phase végétative préalable — *Sections of the short bourse shoot terminal bud. A.* At the end of June: accumulation of all the structures formed in the apical zone, beginning of parenchymatization of the medullar zone and appearance of a border between two types of cells according to their dimensions (arrows). *B.* At the beginning of August, the dome is swelling due to an intensive mitotic activity, first sign of the apex transition from vegetative to floral stage of the terminal bud. *C.* A section of floral meristem (MF) characterized at the middle of August, by an intensive cellular activity in its central part. *D.* A dissymmetry in the apical meristem showing: 1) the continuation of the activity of the initial ring; 2) the appearance of an axillary structure; 3) the leaf regression characterized by an early vacuolization of the cells of the last primordium formed (arrows). *E.* Formation of the terminal flower in the apical meristem. The floral meristems (MF) have a special structure for flowering without vegetative phase.

des cellules formées par le méristème médullaire est inhibé précocement, provoquant le raccourcissement des entre-nœuds et l'accumulation des différentes structures formées. Il ressort de tout ce qui précède que plusieurs événements ont lieu lors de la formation du bourgeon terminal de la pousse courte de bourse ; ils sont de nature organogénétique, morphologique et histologique : ralentissement de l'organogenèse, apparition et accentuation de l'hétéroblastie, raccourcissement de la zone méristématique, différenciation précoce des cellules médullaires dont le grandissement est inhibé après leur formation et enfin apparition de lacunes intercellulaires au niveau de la zone médullaire apicale.

À la mi-juillet, les mêmes aspects morphologiques et anatomiques sont observés sauf que l'activité organogénétique du méristème apical se ralentit encore et que le plastochrone atteint alors 20 jours. Depuis la fin juin, le méristème n'a formé qu'un seul primordium de façon à avoir 14 pièces dans le bourgeon terminal dont 9 évolueront en écailles et le reste en ébauches de feuilles transitoires et de vraies feuilles. Les deux derniers primordia formés d'ordre 13 et 14, ayant respectivement 150 et 50  $\mu\text{m}$  de hauteur, auront un devenir foliaire et constitueront les premières feuilles de l'inflorescence. La section longitudinale axiale montre une progression de la lignification qui touche à ce stade les 7 premières pièces déterminées à se transformer en écailles. La zone méristématique apicale est relativement courte (83  $\mu\text{m}$ ) et surmontée par les deux derniers primordia d'ordre 13 et 14. Le parenchyme médullaire continue à se mettre en place avec une évolution de plus en plus importante des lacunes intercellulaires. Au niveau de ce dernier, la limite différenciant deux types de cellules est observée confirmant l'arrêt de l'élongation internodale.

### 3.2. Différenciation des structures inflorescencielles

Une fois que le bourgeon terminal a formé 14 à 15 pièces à la fin du mois de juillet, l'organogenèse s'accélère (plastochrone court de 3 à 4 jours). Un début de gonflement de la zone apicale axiale du méristème est détecté. Ce gonflement du dôme a été observé au début du mois d'août.

La section longitudinale axiale du bourgeon terminal de la pousse courte de bourse à cette période montre le début du gonflement du dôme méristématique, dû à une intense activité mitotique touchant toutes les zones de l'apex (**Figure 2B**). Le méristème central augmente de volume et englobe les couches internes de la tunica. Des divisions périclinales se déclenchent à la base du corpus permettant l'accumulation des cellules et l'augmentation de la taille de l'apex (gonflement). Parallèlement à ces premières modifications touchant la zone apicale

axiale et centrale du méristème, le méristème de flanc (anneau initial) continue son fonctionnement plastochronique pour initier le primordium d'ordre 16 et les primordia suivants. L'initiation foliaire fait bientôt place à l'organogenèse latérale du couple ébauche foliaire-méristème axillaire ou ébauche bractéale-méristème axillaire.

Le gonflement de la zone centrale du méristème du pommier est considérée par plusieurs auteurs, dont Fulford (1972), Abbott (1977, 1984) et Buban et Faust (1982), comme étant la première manifestation morphologique visible de la transition du méristème de l'état végétatif vers l'état floral. Elle se manifeste par une prolifération cellulaire touchant toutes les parties de l'apex conduisant à l'effacement de la zonation qui caractérisait l'état végétatif. Le méristème central augmente de volume et englobe les couches profondes de la tunica dont le nombre d'assises subit une réduction suite à ce changement de forme de l'apex, passant de 4 à 2. Cette structure particulière de l'apex témoigne de son évolution vers la floraison mais ses potentialités ne sont ni purement végétatives ni purement florales ; il est appelé à évoluer en inflorescence ayant à la fois des structures végétatives (bourgeon de bourse, primordia foliaires, bractées) et génératives (fleur terminale et fleurs latérales).

L'observation au MEB illustre l'aspect morphologique du méristème apical pendant le début de gonflement de la zone apicale axiale (**Figure 3A**). Celui-ci se présente sous forme de dôme (113  $\mu\text{m}$  de largeur) flanqué par les 2 derniers primordia formés. Ces deux primordia d'ordre 15 et 16 du bourgeon terminal, vont former respectivement la 3<sup>e</sup> et la 4<sup>e</sup> vraie feuille (F3 et F4) ayant respectivement 125  $\mu\text{m}$  et 25  $\mu\text{m}$ .

La même photo montre qu'à l'aisselle de la 3<sup>e</sup> vraie feuille (F3), il y a surrection d'un léger bourrelet de structure méristématique, à destinée végétative : il donnera naissance au bourgeon de bourse. De ce fait, l'apparition de cette structure gemmaire axillaire et la formation du 16<sup>e</sup> primordium coïncident avec le gonflement du dôme méristématique du bourgeon terminal. Ces 3 événements constituent selon nos observations les premiers signes morphologiques visibles de la transition florale chez le cultivar de pommier Golden Delicious.

La formation d'un nombre critique de nœuds, c'est-à-dire la mise en place par le méristème apical d'une certaine quantité de structures végétatives est nécessaire avant l'apparition du premier signe de la transition florale au niveau de l'apex de la pousse courte de bourse. Cette quantité de structures semble varier selon le cultivar, ainsi pour le cv Cox's Orange Pippin, Abbott (1977) observe que l'initiation florale ne se réalise qu'après la formation d'environ 20 nœuds alors que pour le cv Golden Delicious, 16

nœuds sont nécessaires pour la transition vers l'état floral (Luckwill, Silva, 1979 ; Escobedo, 1990).

Ce phénomène est à rapprocher du concept de maturité de floraison (“ripeness to flower”) introduit par Klebs dès 1913, selon lequel un arbre doit passer par une phase juvénile avant la maturité reproductive ; le méristème apical, pour sa part, doit former un certain nombre de structures végétatives avant de montrer les premiers signes annonçant la transformation florale. D'où l'importance de la phase végétative du bourgeon terminal dans la formation des fleurs (Buban, Faust, 1982). Cette phase végétative étant limitée dans le temps, la vitesse de production des nœuds dans le bourgeon conditionne donc la formation des fleurs. Ceci fait intervenir le concept plastochronal développé sur le pommier par Abbott (1977), Crabbé (1987), Escobedo (1990) et Mehri (1995). Le premier auteur montre qu'un plastochrone supérieur à 7 jours pour le cv “Miller's Seedlings” ne permet pas la formation des fleurs. Il signale un ralentissement de l'activité méristématique dans les bourgeons qui restent végétatifs et dont le plastochrone passe de 7 à 18 jours. Escobedo (1990), Crabbé et Escobedo (1991) et Mehri (1995) ont montré sur le cultivar de pommier Golden Delicious que si les 13<sup>e</sup> et 14<sup>e</sup> nœuds sont mis en place au sein du bourgeon, alors que l'organogenèse se déroule, avec un plastochrone inférieur à 9 jours, le bourgeon deviendra inflorescenciel. Dans le cas contraire, il restera végétatif.

Juste après la formation du dôme méristématique, l'activité organogénétique s'accélère, le méristème apical de la pousse (ou méristème inflorescenciel) continue à initier des primordia foliaires par le fonctionnement de l'anneau initial inflorescenciel et selon la phyllotaxie caractéristique du pommier ; le plastochrone à ce stade est relativement court.

À partir du 16<sup>e</sup> nœud et en allant dans le sens acropète, le méristème apical continue à initier au niveau de chaque nœud formé, à la fois un primordium et une structure gemmaire axillaire. Ces structures montrent un développement plus important que celui localisé au 15<sup>e</sup> nœud.

L'examen au MEB de la zone apicale de la pousse de bourse, après écartement des écailles et de certains primordia foliaires (**Figure 3B**) montre, à ce stade, l'état de développement des derniers primordia initiés et la localisation du bourrelet méristématique destiné à donner le bourgeon de bourse au niveau du 15<sup>e</sup> nœud. À l'aisselle des primordia d'ordre 16, 17 et 18 correspondant aux vraies feuilles d'ordre 4, 5 et 6, d'autres structures gemmaires axillaires sont formées et évolueront en fleur, donnant ainsi naissance aux 3 premières fleurs latérales du bourgeon terminal. Le primordium d'ordre 19 donnera probablement naissance à la première bractée dont l'aisselle n'est

pas encore garnie à ce stade ; celui-ci axillera la 4<sup>e</sup> fleur latérale du bourgeon inflorescenciel. Les méristèmes latéraux prennent un développement important par rapport au méristème du bourgeon de bourse.

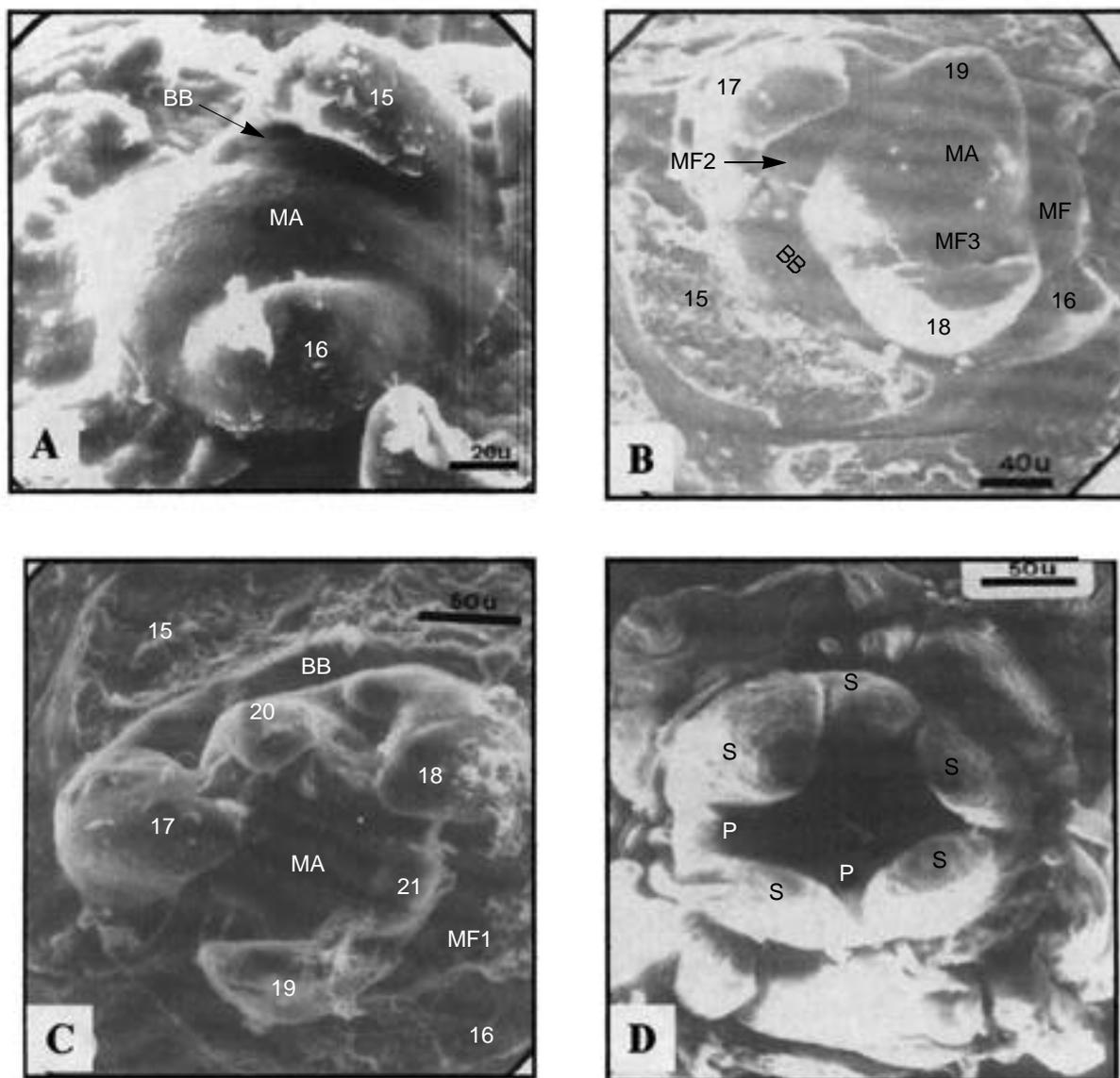
La section longitudinale axiale au niveau du méristème apical permet de visualiser l'état de développement des structures axillaires (**Figure 2C**) atteignant une largeur (distance comprise entre les deux bases foliaires) de 143  $\mu\text{m}$  et une hauteur de 166  $\mu\text{m}$ . Une légère dissymétrie apparaissant au niveau du méristème apical axial est due au fonctionnement plastochronal de l'anneau initial (**Figure 2D**, flèche) et ce, par des mitoses périclines et anticlines profondes annonçant la naissance d'un nouveau primordium.

À ce stade de développement (mi-août), les structures gemmaires axillaires (MF1, MF2, MF3) nouvellement individualisées et qui constituent les méristèmes des fleurs latérales de rang 1, 2 et 3, se structurent comme de véritables apex en phase de transition vers l'état floral sans passer par une phase végétative. Deux assises cellulaires superficielles régulièrement ordonnées en tunica (**Figure 2C**) enveloppent un groupe de cellules centrales où de nombreuses mitoses se font dans toutes les directions comme dans un massif de corpus. Toutes ces cellules ont des caractères très méristématiques et ont un cytoplasme très dense.

Par ces processus de mérése et d'auxèse observés au niveau de l'axe inflorescenciel, la zone centrale accumule un abondant matériel cellulaire et accroît rapidement ses dimensions. Elle montre un soulèvement dû essentiellement à une élongation relativement rapide des cellules de la moelle (**Figure 2D**). Tout au long de cette évolution de l'axe, une régression foliaire est observée, se manifestant par la transformation des feuilles en bractées. Cette régression peut être détectée principalement au niveau des sections sériées observées, par une différenciation et une vacuolisation précoce des cellules de la face ventrale des primordia qui évolueront en bractées.

Une fois que le primordium initié par l'apex terminal atteint environ 250  $\mu\text{m}$  de hauteur au niveau de son aisselle, les cellules de la couche superficielle du méristème apical se cloisonnent dans le sens anticline, alors que les couches profondes se divisent dans le sens péricline (**Figure 2D**, flèches). Ces 2 activités seront à l'origine de structures gemmaires axillaires. On assiste à la naissance d'un méristème latéral dont le devenir sera floral. Ce dernier prend naissance à partir des cellules du futur axe inflorescenciel et semble avoir une localisation caulinaire, contrairement aux méristèmes axillaires végétatifs dont la localisation est plutôt foliaire.

L'un de nous (Jacques Crabbé) observe sur le pommier une préséance foliaire lors du débourrement du bourgeon végétatif et une préséance caulinaire lors du



**Figure 3.** Aspect morphologique de l'apex du bourgeon terminal de la pousse courte de bourse tel que révélé par l'observation au microscope électronique à balayage (MEB). **A.** Apparition en début août, à l'aisselle de la 3<sup>e</sup> feuille, d'une structure gemmaire dont l'évolution sera végétative, le bourgeon de bourse (BB). **B.** Localisation du bourgeon de bourse au niveau du 15<sup>e</sup> nœud et des 3 primordia de méristèmes floraux (MF1, MF2 et MF3) à l'aisselle des primordia 16, 17 et 18. **C.** Initiation, à la 3<sup>e</sup> semaine du mois d'août, du dernier primordium végétatif de l'inflorescence (d'ordre 21) qui axillera la dernière fleur latérale. Le bourgeon de bourse BB est inhibé dans son évolution. **D.** Anneau initial du méristème apical : la future fleur terminale a 5 sépales (S) et deux ébauches de pétales (P). — *Scanning electron micrographs of the terminal bud apex of the short "bourse" shoot. A. Appearance, in the beginning of August, of a vegetative structure, the "bourse" bud (BB). B. Localization of the bourse bud in the 15<sup>th</sup> node, and of 3 floral meristem primordia (MF1, MF2 et MF3) at the 16th, 17th and 18th primordium. C. Initiation, at the third week of August, of the last vegetative primordium of the inflorescence (21). The bourse bud is inhibited. D. Initial ring of the apical meristem, the future terminal flower has already 5 sepals (S), and the sketch of 2 petals (P). MA : méristème apical — Apical meristem.*

débourrement d'un bourgeon floral. Cette préséance caulinaire est bien illustrée pendant les premiers stades de l'édification de l'inflorescence du pommier cv Golden Delicious. Le développement de l'axe inflorescenciel est équivalent au développement des ébauches foliaires (par exemple 363 et 352 µm respectivement). Par

comparaison, dans la phase de croissance végétative, l'élongation internodale de l'axe reste très inférieure à celle de l'ébauche foliaire (par exemple 51 et 500 µm).

Il semble donc que la localisation des méristèmes latéraux varie durant l'ontogenèse de la plante par suite des corrélations existant entre les différentes

parties de l'apex d'une pousse en croissance (Esau, 1965 ; Michno-Zatorska *et al.*, 1987 ; Michno-Zatorska, 1988). En effet, la localisation des cellules prédéterminées à produire des méristèmes axillaires est soumise à deux contraintes de croissance. Lorsque la croissance de l'entre-nœud nouvellement formé est plus importante que celle de la feuille, le méristème axillaire aura une localisation caulinaire (phase florale) ; dans le cas contraire, il apparaît à la base de la feuille (phase végétative).

Vers la 3<sup>e</sup> semaine d'août, le méristème apical de l'inflorescence initie le dernier primordium de rang 21 (**Figure 3C**). Le bourrelet méristématique correspondant au méristème du bourgeon de bourse semble être inhibé dans son évolution en comparaison avec les méristèmes latéraux axillés par les primordia d'ordre 16 à 20 (**Figure 3C**). À ce stade et selon l'examen au MEB et les microdissections réalisées, toutes les structures végétatives formant l'inflorescence sont initiées : 3 feuilles transitoires, 6 ébauches foliaires et 3 ébauches de bractées (primordia d'ordre 19, 20 et 21). Les 17<sup>e</sup> et 18<sup>e</sup> primordia formés correspondant aux 5<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> feuilles axillent des structures gemmaires destinées à donner naissance à la 2<sup>e</sup> et la 3<sup>e</sup> fleur latérale. À l'aisselle des primordia d'ordre 19 et 20 correspondant respectivement à la 1<sup>e</sup> et la 2<sup>e</sup> bractée, les bourrelets méristématiques apparaissent et sont à l'origine de la formation de la 4<sup>e</sup> et la 5<sup>e</sup> fleur latérale.

À ce stade de développement, il y a détermination préalable des derniers primordia formés, permettant de signaler une distinction morphologique précoce entre primordium foliaire et primordium bractéal et ce, par leur forme et la présence ou l'absence des stipules à la base du primordium en question. En section longitudinale axiale et selon les mêmes processus développés précédemment, l'axe inflorescenciel continue son allongement (dépassant les 800 µm) et les méristèmes latéraux ayant la forme d'un dôme sont prêts pour une éventuelle différenciation des structures florales (**Figure 2E**).

C'est vers la fin du mois d'août que la différenciation des structures florales est entamée. L'axe inflorescenciel s'allonge, séparant ainsi les différents ensembles initiés (primordium foliaire–méristème floral). Les ébauches de bractées qui se développent sans formation de stipules à leur base, axillent les dernières fleurs latérales. Deux bourrelets, de part et d'autre du méristème latéral, sont à l'origine des deux bractéoles de la fleur. À ce stade, aucune différenciation des verticilles floraux n'est entamée. Les méristèmes floraux montrent un gonflement de la zone centrale et semblent ralentir ou même arrêter leur évolution au profit du méristème terminal dont les parties latérales (anneau initial inflorescenciel) commencent à initier les sépales.

Une semaine après (début septembre),

l'observation au MEB décèle la présence de 5 sépales contigus entourant totalement le réceptacle floral. Ils diffèrent par leur état de développement signalant un ordre d'apparition distinct. Le calice ne semble pas constituer un vrai verticille floral, en effet, chacune des 5 pièces qui le composent a une individualité bien définie ; ce qui explique certaines anomalies de taille illustrées par la **figure 3D**, la taille des sépales étant en relation avec leur ordre d'apparition. Cet aspect a été observé sur d'autres Rosacées. Plantefol (1948), détaillant la théorie des hélices foliaires multiples régissant la phyllotaxie, montre que les 5 sépales d'une fleur pentamère ont un ordre d'apparition "quinconcial", les sépales apparaissant l'un après l'autre sur chacune des 2 hélices alternativement. L'une des hélices porte 3 sépales, alors que l'autre n'en porte que deux.

Des bourrelets apparaissent au niveau du réceptacle floral entre les sépales, annonçant le début de la formation des primordia des pétales. Les fleurs latérales semblent être inhibées dans leur développement, elles ne montrent qu'un élargissement de la zone centrale pour la formation de leur réceptacle (**Figure 3D**). La section longitudinale passant au niveau de la fleur terminale, montre la séquence d'apparition des verticilles de la fleur terminale, l'élargissement de la zone centrale du méristème apical, l'apparition des ébauches des sépales et le début d'apparition des pétales. On assiste à ce moment à une individualisation de la fleur terminale, grâce à une élongation de l'axe inflorescenciel assurée surtout par des divisions et un allongement des cellules de la moelle.

À la mi-septembre, toutes les pièces de la fleur terminale ont été initiées ; les ébauches des étamines se présentent en section longitudinale axiale sous forme d'îlots de cellules indifférenciées et sont dépourvues de filets. Les fleurs latérales rattrapent leur retard par rapport à la fleur terminale et sont également au stade formation des étamines. Le bourgeon de bourse localisé au niveau du 15<sup>e</sup> nœud, se structure sous forme d'un apex végétatif montrant le développement de 2 primordia foliaires.

Chez le pommier, les méristèmes floraux dérivent du méristème inflorescenciel. Sur la même ébauche inflorescencielle, coexistent plusieurs types de méristèmes qui diffèrent dans leur structure et leur fonction :

- des méristèmes végétatifs donnant naissance aux ébauches foliaires selon la phyllotaxie spiralée caractéristique du pommier ;
- un méristème inflorescenciel au niveau de la zone apicale du bourgeon terminal produisant à la fois des organes végétatifs, des méristèmes latéraux floraux et des méristèmes latéraux végétatifs : bourgeons de bourse (1 ou 2 sont observés) ;

- des méristèmes floraux qui édifient successivement les verticilles des pièces florales.

Les phénomènes observés au niveau de la pousse courte du pommier cv Golden Delicious sont également observés au niveau de la pousse longue de “bourse”, avec un décalage dans le temps d’environ 30 jours.

#### 4. CONCLUSION

La première modification morphologique et structurale liée à l’initiation florale chez le cultivar Golden Delicious observée est l’augmentation des dimensions du méristème et le changement de fonctionnement de la phyllotaxie se traduisant par une accélération du développement ; aux feuilles succèdent des bractées à l’aisselle desquelles les bourgeons axillaires se développent précocement. Le développement des structures florales chez le pommier peut être résumé en 3 étapes : une phase végétative, une phase de mise en place de l’inflorescence et une phase de développement des méristèmes latéraux (végétatifs et floraux).

Pendant la phase végétative, le méristème caulinaire met en place les ébauches foliaires selon un rythme plastochronal, sans apparition de structures gemmaires axillaires

Pendant la phase de la formation de l’inflorescence, il y a développement précoce de méristèmes à l’aisselle des ébauches des feuilles et des bractées. Le développement des méristèmes latéraux situés à l’aisselle du 15<sup>e</sup> nœud, va évoluer végétativement, ceux qui suivent, situés au niveau des nœuds 16, 17, 18, 19, 20 et 21, vont évoluer pour donner les fleurs latérales. Ces méristèmes latéraux montrent un début de développement, s’allongent et commencent à mettre en place les verticilles floraux successifs. La différence à signaler entre les modes de fonctionnement, respectivement des méristèmes végétatif et inflorescenciel, est l’inversion de préséance. Ainsi, pendant la phase végétative, il n’y a pas de développement de méristèmes axillaires et ce sont les ébauches de feuilles qui se développent, alors que, pendant la phase inflorescencielle, il y a un déclin foliaire (bractées) au profit des méristèmes latéraux.

#### Bibliographie

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. (1977). Fruit bud formation in Cox’s Orange Pippin. *Ann. Rep. Long Ashton Res. Sta.* **1976**, p. 167–176.  
 Abbott DL. (1984). *The apple tree: physiology and*

*management*. London: Growers Books, 90 p.  
 Bernier G. (1988). The control of floral evocation and morphogenesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* **39**, p. 175–219.  
 Bernier G., Havelange A., Houssa C., Petitjean A., Lejeune P. (1993). Physiological signals that induce flowering. *Plant Cell* **5**, p. 1147–1155.  
 Bodson M. (1989). *Régulation et mécanismes de contrôle du développement reproducteur de l’azalée (Rhododendron sp.)*. Bruxelles : IRSIA, 134 p.  
 Buban T., Simon L. (1978). Cytochemical investigations in apices of apple buds with special reference to flower initiation. *Acta Hort.* **80**, p. 193–198.  
 Buban T., Faust M. (1982). Flower bud induction in apple trees. Internal control and differentiation. *Hort. Rev.* **4**, p. 174–203.  
 Crabbé J. (1987). *Aspects particuliers de la morphogenèse caulinaire des végétaux ligneux et introduction à leur étude quantitative*. Bruxelles : IRSIA, 116 p.  
 Crabbé J. (1991). La floraison des végétaux ligneux envisagée sous l’angle de l’organisation spatio-temporelle de la plante. In *Compte-rendu du séminaire du Groupe d’Étude de l’Arbre, Gembloux (Belgique)*, 21–22 mars.  
 Crabbé I., Escobedo IA. (1991). Activités méristématiques et cadre temporel assurant la transformation florale des bourgeons chez le pommier (*Malus x domestica* Borkh., cv. Golden Delicious). In C. Edelin (Ed) *Naturalia Monspeliensia* N° hors série **A7**. *L’arbre. Biologie et développement. Actes du 2<sup>e</sup> colloque international sur l’arbre. Montpellier 10–15 septembre 1990*, p. 369–379.  
 Dostal R. (1952). Experimental morphogenesis of buds in the Horse Chestnut. Cité par Sebanek I. (1985). Scientific heritage of prof. Dostal for the development of experimental plant morphology. *Acta Univ. Agric. Brno.* **33** (3), p. 25–69.  
 Esau K. (1965). *Plant anatomy*. 2<sup>e</sup> éd. New York: Wiley, 767 p.  
 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.  
 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 apple buds. *Ann. Bot. N.S.* **30**, N° 117.  
 Fulford RM. (1966b). The morphogenesis of apple buds. III. The inception of flowers. *Ann. Bot. N.S.* **30**, N° 118.  
 Fulford RM. (1966c). The morphogenesis of apple buds. IV. The effect of fruit. *Ann. Bot. N.S.* **30**, N° 120.  
 Fulford RM. (1972). Leaves, fruit and flower initiation. In

- Proceeding of 18th International Horticultural Congress, Tel Aviv 1970 VI*, p. 143–150.
- Gabe M. (1968). *Techniques histologiques*. Paris : Masson, 1113 p.
- Jackson DL., Sweet OB. (1972). Flower initiation in temperate woody plants: A review based largely on the literature of conifers and deciduous fruit trees. *Hort. Abstr.* **42** (1), p. 9–24.
- Johansen DA. (1940). *Plant microtechnique*. New York: Mc Graw-Hill, 523 p.
- Klebs O. (1913). Über das Verhältnis der Aussenweit zur Entwicklung der Pflanzen. *Sitz. Ber. Heidelberg Akad., Abst.* **12**, Biol. Wiss. 5: 34 7.
- Kramer PJ., Kozłowski TT. (1979). *Physiology of woody plants*. New York: Academic Press, 811 p.
- Luckwill LC. (1970). The control of growth and fruitfulness of apple trees. In Luckwill LC., Cutting CV. (Eds) *Physiology of the crop*. London: Academic Press, p. 237–254.
- Luckwill LC (1974). A new look at the process of fruit bud formation in apple. *XIX<sup>th</sup> International Horticultural Congress, Warszawa, 11–18 September*.
- Luckwill LC., Silva JM. (1979). The effect of daminozide and gibberellic acid on flower initiation, growth and fruiting of apple cv Golden Delicious. *J. Hort. Sci.* **54** (3), p. 217–223.
- 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.
- Mehri H., Huyn-Long Van, Crabbé J. (1994). Quelques aspects de la morphogenèse florale des apex caulinaires du pommier cv Golden Delicious. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* (Belgique) **29**, p. 475–487.
- Michno-Zatorzka Z., Michniewicz M., Szczesniak T. (1987). Some remarks concerning the localization of axillary meristems in relation to flowering of long day and neutral plants. *Bull. Pol. Acad. Sci.* **35**, p. 135–141.
- Michno-Zatorzka Z. (1988). Investigations on the role of axillary meristem localization in flowering. *Flow. Newsl.* **6**, p. 24–26.
- Plantefol I. (1948). *La théorie des hélices foliaires multiples*. Paris : Masson, 154 p.
- Raper CD., Thomas JF., Tolley-Henry L., Rideout JW. (1988). Assessment of an apparent relationship between availability of soluble carbohydrates and reduced nitrogen during floral initiation in tobacco. *Bot. Gaz.* **149**, p. 289–294.
- Sachs RM., Hackett WP. (1983). Source-sink relationships and flowering. In Meudt WJ. (Ed.). *Strategies of plant reproduction*. Totowa, USA: Allanheld, Osmun & Co, p. 263–272.
- Schmidt S. (1978). Cité par Escobedo (1990).
- Tromp J. (1968). Floral bud formation and shoot growth in apple as affected by shoot orientation. *Acta Bot. Neerl.* **17**, p. 212–220.
- Williams MW., Green PB. (1988). Sequential scanning electron microscopy of a growing plant meristem. *Protoplasma* **147**, p. 77–79.
- Williams MW. (1983). Managing flowering, fruit set and seed development in apple with chemical growth regulators. In Meudt WJ. (Ed.). *Strategies of plant reproduction*. Totowa, USA: Allanheld, Osmun & Co, p. 273–286.

(38 réf.)