

Importance des tanins vacuolaires dans le développement des ovaires et des ovules de la vigne

par

MONIQUE FOUGÈRE-RIFOT¹⁾, J.-J. DELAVAUUX¹⁾, N. BENHARBIT EL ALAMI¹⁾, J. BOUARD¹⁾
et O. BRUN ²⁾

¹⁾ Laboratoire des Sciences de la Vigne, Université Bordeaux I, France

²⁾ Mumm-Vignobles et Recherches, Epernay France

R é s u m é : Dans les ovaires et ovules de *Vitis vinifera*, certaines cellules seulement, renferment des vacuoles à tanins. Les tanins s'y trouvent séquestrés sous des formes allant de très fins granules dispersés dans toute la vacuole à des amas plus ou moins agglutinés, en passant par toutes les étapes intermédiaires.

Dès les stades jeunes, tous les tissus de l'ovaire sont riches en tanins et leur teneur ne cesse de croître pendant toute la durée de développement des ovules.

Par contre, les ovules sains accumulent très précocement des tanins vacuolaires, mais seulement en des sites très précis, et il existe une concordance rigoureuse entre la répartition des tanins dans les différents tissus de l'ovule et les stades du développement ovulaire. L'appartition des tanins a lieu d'abord dans l'épiderme externe du funicule, et se poursuit dans l'épiderme du tégument externe. Plus tard, l'épiderme interne du tégument interne se charge fortement en tanins. Il en est de même de quelques cellules du parenchyme du funicule et du parenchyme du tégument externe, ainsi que des cellules situées autour du faisceau libéro-ligneux chalazien. Les cellules du nucelle et celles du gamétophyte des ovules sains ne renferment jamais de vacuoles tanniques.

Certains ovules n'accumulent pas ou très peu de tanins; d'autres se chargent normalement de tanins pendant quelques étapes de leur développement, puis, les vacuoles qui les renferment sont détruites et libèrent leur contenu dans toute la cellule. Les cellules sont lysées et ces ovules avortent plus ou moins précocement.

Les tanins paraissent être un marqueur de la vitalité des ovules. Leur présence en des sites bien définis de l'ovule est un signe de développement normal, tandis que leur absence ou leur rareté annonce inéluctablement leur involution.

Importance of vacuolar tannins in grapevine for the development of ovaries and ovules

S u m m a r y : In ovaries and ovules of *Vitis vinifera* the vacuoles of some cells contained tannins showing all forms ranging from fine granules to more or less agglutinated masses. Young ovarian tissues were rich in tannins whose amount would grow continuously during the development of the ovules. In healthy ovules vacuolar tannins occurred early but only at limited locations which were characteristic for the state of development. The tannins were observed first in the outer epidermis of the funicle and then in the epidermis of the external integument. Later on, they accumulated also in the epidermis of the inner integument, in some parenchymatic cells of the funicle, of the outer integument and of the chalaza bundle but never in cells of the nucellus and of the gametophyte of healthy ovules.

Some ovules would accumulate no tannins, others showed accumulation at early stages followed by the lysis of the vacuoles and eventually of the whole cells. Both ovule types aborted prematurely. It is concluded that the presence of tannins at certain sites of the ovule is indicator of its vitality.

K e y w o r d s : ovule development, tannin vacuoles, cytology, ovule abort, Vitis.

Introduction

A maturité, les tanins présents dans les baies de *Vitis vinifera* L. contribuent à donner au vin une partie de ses caractéristiques. Ils apparaissent très tôt au cours de l'ontogenèse florale;

Correspondance à: DR. MONIQUE FOUGÈRE-RIFOT, Laboratoire des Sciences de la Vigne, Université Bordeaux I, Avenue des Facultés, F-33405 Talence Cedex, France

ainsi, dès le stade bouton, certaines cellules des parois carpellaires accumulent déjà des tanins vacuolaires. Par ailleurs, bien des ovules n'arrivent pas à maturité et de nombreux boutons tombent avant la floraison. Or, la teneur en tanins vacuolaires est très différente dans les cellules des ovules sains et dans ceux qui sont en cours de dégénérescence. Une étude au niveau cellulaire s'est donc avérée nécessaire afin de déterminer les relations éventuelles entre la présence de tanins et l'évolution normale des ovules et des ovaires ou, à l'inverse, leur involution. Dans ce travail la localisation des tanins a été suivie du bouton à la fleur épanouie fécondée.

Matériel et méthodes

Cette étude porte sur trois cépages de *Vitis vinifera* L., le Merlot, le Cabernet Sauvignon et le Chardonnay. les prélèvements ont été effectués à la Grande Ferrade (Centre INRA de Bordeaux).

Le développement des inflorescences de rang 1 a été suivie en effectuant des prélèvements réguliers tous les huit jours, depuis le stade «grappe visible» jusqu'au stade „nouaison“ (stades repères de BAGGIOLINI 1952). Au laboratoire, les échantillons ont été immédiatement disséqués afin d'atteindre le gynécée, puis traités selon diverses techniques.

Pour les observations en microscopies photonique et électronique à transmission, les échantillons ont été fixés par du glutaraldéhyde à 2,5 % dans un tampon phosphate de Sørensen 0,1 M, à pH 7,2 et à 4 °C pendant 1,5 h, puis postfixés par le tétr oxyde d'osmium à 1 % dans le même tampon et dans les mêmes conditions. Après déshydratation, l'inclusion a été réalisée dans l'épon. Des coupes semi-fines, sériées et colorées par le lugol et le bleu de toluidine, ont été observées et photographiées au moyen d'un microscope Zeiss. Les coupes fines réalisées avec un couteau de diamant et contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (REYNOLDS 1963) ont été étudiées avec un microscope JEOL 100S au Centre de Microscopie Electronique de l'Université Bordeaux I.

La mise en évidence de polysaccharides a été réalisée sur coupes semi-fines par le test PAS (acide periodique-réactif de Schiff).

Résultats et discussion

1. Les cellules à vacuoles tanniques

Chez les végétaux, et en particulier dans le gynécée de la fleur de vigne, les tanins peuvent être présents soit au niveau des parois cellulaires, soit à l'intérieur d'une enclave vacuolaire limitée par un tonoplaste. Seul, ce dernier cas sera envisagé ici.

Chez la vigne, l'évolution des ovaires et des ovules présente fréquemment des aléas. Bien souvent, un ou plusieurs ovules d'un même ovaire n'arrivent pas à se développer normalement (BOUARD 1978), subissent une involution, et ne peuvent atteindre les stades de la pollinisation et de la fécondation (FOUÈRE-RIFOT et BOUARD 1992). C'est pourquoi, nous étudierons successivement le cas d'une ontogenèse normale conduisant des ovules sains à la fécondation puis à la formation de pépins, et le cas d'ovules en cours d'involution.

1.1. Les cellules à tanins dans les ovaires et les ovules sains: Les cellules qui possèdent des vacuoles tanniques ne sont présentes que dans des tissus bien précis du gynécée. Par exemple, certains parenchymes possèdent des cellules à tanins, dispersées au milieu de cellules qui en sont dépourvues, et, à l'inverse, toutes les cellules de certains épidermes sont riches en tanins (cf. 2. et 3.).

Les vacuoles à tanins (Fig. 1 à 9) : Les tanins sont séquestrés dans des vacuoles plus ou moins grandes: dans certains cas, une seule et immense vacuole occupe la majeure partie du volume cellulaire; plus rarement, une grande vacuole et plusieurs petites sont présentes dans la même cellule (Fig. 1 à 8).

Les tanins se présentent sous des formes différentes, plus ou moins précipitées par la fixation osmique utilisée pour la préparation des échantillons. Une très grande hétérogénéité d'apparence des vacuoles à tanins se rencontre dans des cellules voisines d'un même parenchyme (Fig. 9). Dans certaines cellules, les tanins forment un fin précipité dans toute l'enclave vacuolaire. Ce précipité peut être composé de petits éléments extrêmement ténus et réguliers (Fig. 1), ou de granules plus importants mais toujours régulièrement répartis (Fig. 2). Dans d'autres cellules, au contraire, les tanins sont sous forme de très gros granules groupés en amas (Fig. 5, 6, 7) ou totalement agglutinés (Fig. 3, 4). Parfois, les tanins sont agglomérés en masses qui dessinent une couronne le long du tonoplaste (Fig. 8). Il est possible de trouver toutes les formes intermédiaires d'accumulation dans les vacuoles.

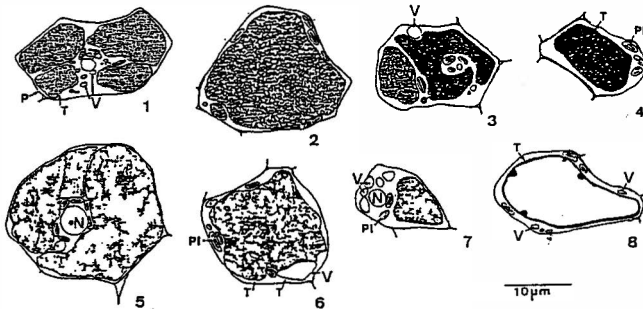


Fig. 1 à 8: Merlot. Schémas. Cellules contenant différences types de vacuoles tanniques. Certaines cellules (1, 3, 6, 7, 8) renferment à la fois des vacuoles tanniques et des vacuoles non tanniques.

Schemas. Cells with all kinds of tannic vacuoles. Some cells (1, 3, 6, 7, 8) have both tannic vacuoles and non-tannic vacuoles.

A b r é v i a t i o n s u t i l i s é s : **An**: anthère; **C**: columelle; **CM**: cellule à mâcle d'oxalate de calcium; **CR**: cellule à raphides d'oxalate de calcium; **CT**: cellule à tanins; **CTM**: cellule tannique morte; **CZ**: chalaze; **Dép**: dépression centrale du stigmate; **Ep**: épiderme; **F**: filet d'étamine; **Fil**: faisceau libéro-ligneux; **Fu**: funicule de l'ovule; **LC**: loge carpellaire; **MF**: macrospore fertile; **N**: noyau; **Nu**: nucelle; **O**: ovule; **OI**: ovule en involution; **OS**: ovule sain; **OV**: ovaire; **P**: paroi cellulaire; **PC**: paroi carpellaire; **PI**: plaste; **PS**: papille stigmatique; **SE**: sac embryonnaire; **Sg**: stigmate; **St**: style; **T**: tonoplaste; **TE**: tégument externe de l'ovule; **TI**: tégument interne de l'ovule; **V**: vacuole; **VT**: vacuole tannique.

Il ne semble pas que ces différents aspects correspondent à des étapes du vieillissement cellulaire, car les tanins se présentent parfois sous des configurations différentes dans deux vacuoles voisines d'une même cellule (Fig. 3) mais, il est concevable d'envisager une évolution des tanins vacuolaires qui passeraient par des formes plus ou moins dispersées, ou à l'inverse plus ou moins associés. L'évolution des tanins vacuolaires a été suivie par ALSAIDI (1975) dans le méristème apical des bourgeons latents de vigne. Dans ce cas, les tanins passent progressivement d'un état dispersé à un état très agglutiné où il ne subsiste qu'une seule et unique masse tannique par vacuole.

L'isolement des tanins dans un compartiment cellulaire dont la membrane est réputée pour sa sélectivité pose le problème de leur exclusion du métabolisme cellulaire et celui de leur nocivité. Est-ce que la cellule les considère comme des déchets non récupérables, stockés et isolés dans une enclave membranaire étanche? Cependant, les tanins connus pour être des dénaturateurs de protéines constituent un danger permanent pour l'intégrité membranaire et par conséquent, pour la survie de la cellule. La rupture du tonoplaste et la libération des tanins est peut-être l'une des causes de la mort précoce d'un certain nombre de cellules.

Les autres organites cellulaires: Mis à part les parois cellulaires et le noyau, éléments constants, et les vacuoles tanniques, éléments particuliers, les cellules à tanins sont caractérisées par une grande pauvreté en organites cellulaires.

Dans les cellules épidermiques, des mitochondries globuleuses, des plastes indifférenciés et de petites vacuoles sans tanins côtoient de grandes vacuoles tanniques. La présence de ceux types de vacuoles souligne bien l'hétérogénéité du système vacuolaire. Cette dualité vacuolaire se retrouve dans de nombreux tissus (Fig. 1, 3, 5, 6, 7, 8).

Les cellules des parenchymes ovariens contiennent des chloroplastes amylières à système lamellaire peu développé (Fig. 1 à 8). Les autres organites (Golgi, réticulum endoplasmique, petites vacuoles non tanniques ...) sont peu représentés.

Au sein d'un même tissu, la fréquence et l'état des divers organites sont très comparables dans les cellules avec et sans tanins. Cependant, les oléosomes sont plutôt présents dans les cellules qui en sont dépourvues.

1.2. Les cellules à tanins dans les ovaires et les ovules en cours d'involution : Dans les ovules en cours d'involution, de nombreuses cellules meurent plus ou moins tôt; leur hyaloplasme est précipité et les organites sont difficiles à identifier. Les cellules tanniques sont également concernées par une dégradation prématurée et, dans leur cytoplasme devenu pycnotique et osmiophile, les vacuoles à tanins constituent des plages homogènes.

Par la suite, le contenu vacuolaire se répand dans tout le volume cellulaire et les tanins se dispersent dans la cellule. Le hyaloplasme paraît totalement dépourvu d'organites et les tanins semblent comme „dilués“ dans le mélange aqueux. L'ensemble du volume cellulaire se présente alors comme une plage uniforme allant du gris clair au gris foncé. Les parois cellulaires ont tendance à se plisser; les cellules plasmolysées s'affaissent.

Plus tardivement, les cellules sont quasiment vides, et seuls le cadre pariétal et quelques débris cellulaires indéterminables subsistent.

Fig. 9: Merlot. Nucelle d'un jeune ovule. Les tanins vacuolaires sont plus ou moins agglutinés. Microscopie électronique à transmission.

Fig. 10: Merlot. Coupe longitudinale dans un ovaire jeune. De nombreuses cellules ont des vacuoles tanniques. Les ovules sont méristématiques. Aucune cellule ne contient des tanins.

Fig. 11: Merlot. Même stade. Coupe longitudinale d'un ovule méristématique dans une loge carpellaire. La paroi carpellaire possède des tanins. La columelle et l'ovule en sont dépourvus.

Fig. 12: Merlot. Coupe longitudinale d'un ovaire légèrement plus âgé que le précédent. La charge en tanins augmente dans les parois carpellaires. Les ovules amorcent une courbure vers l'extérieur et le tégument interne forme un bourrelet annulaire. Les cellules de l'épiderme dorsal des ovules accumulent des tanins. Les ovules sont sains.

Fig. 13: Chardonnay. Coupe longitudinale d'un ovaire plus âgé. Les cellules de la columelle commencent à accumuler des tanins. Les ovules sont au stade macrospore fertile. Ils ont accentués leur courbure et toutes les cellules de l'épiderme externe du funicule prolongé par celui du tégument externe ont acquis une forte teneur en tanins.

Fig. 14: Chardonnay. Même stade. L'ovule est sain et la charge en tanins normale pour ce stade.

Abréviations: voir légende Fig. 1 à 8

Fig. 9: Young ovule nucelle. Vacuolar tannins appear more or less agglutinated (TEM).

Fig. 10: Longitudinal section of a young ovary. Numerous cells have tannic vacuoles. Ovules are meristematic without tannins.

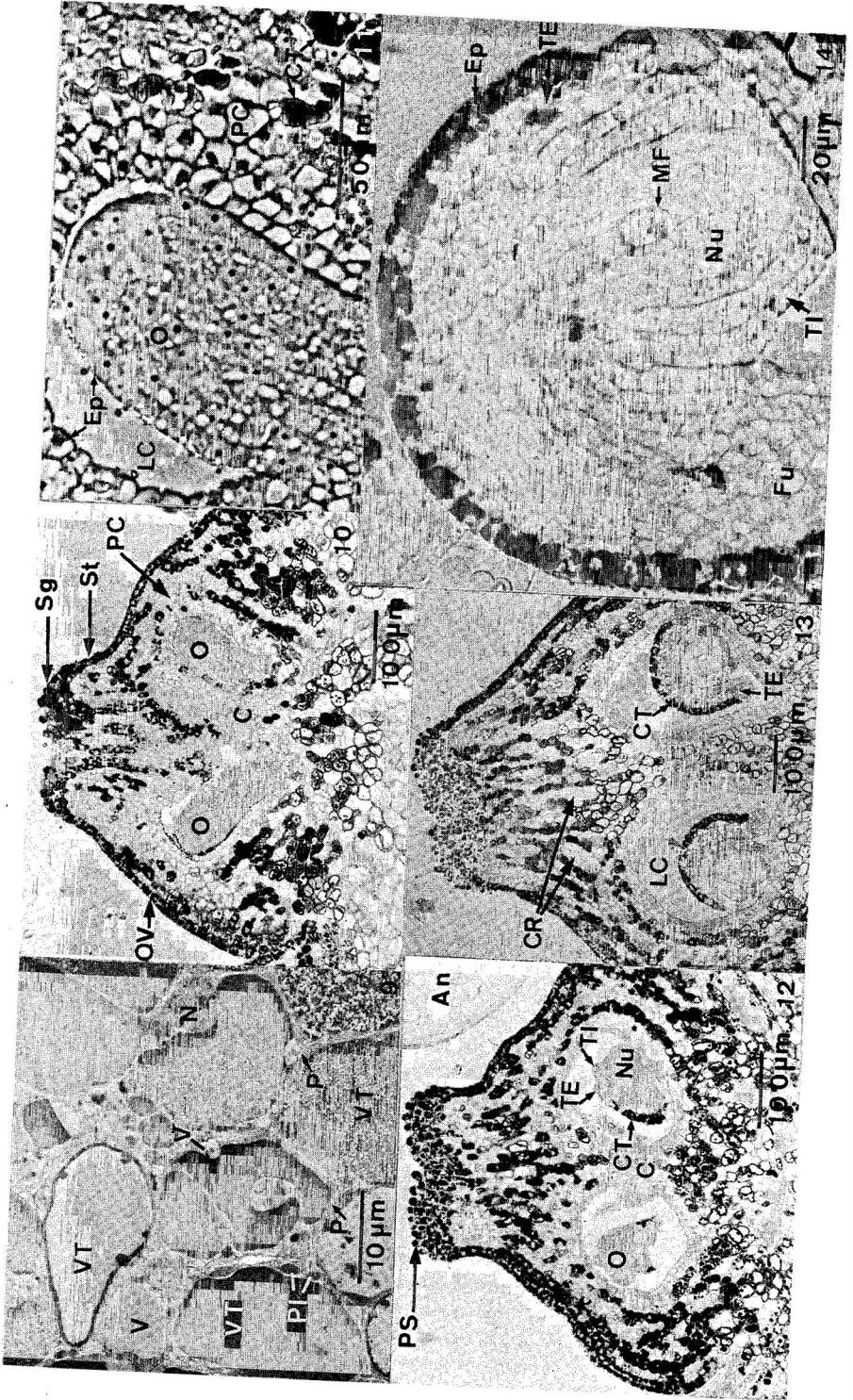
Fig. 11: Same stage. Meristematic ovule in ovarian cavity. Carpellary tissues have tannic cells but columella and ovule have none.

Fig. 12: Longitudinal section of an ovary barely older than this of Fig. 11. Tannins increase inside carpellary cells. Ovules begin to curve towards the outer side. Inner integument draws a circular fold (primordia of integument). Dorsal epidermal cells of the young ovules accumulate tannins. Ovules are healthy.

Fig. 13: Longitudinal section of an older ovary. Columellar cells begin to amass tannins. Ovules have functional megaspore. They become more and more curved. Tannins are present in the epidermal cells of the outer integument (funicule + outer integument).

Fig. 14: Same stage. Ovule is healthy and its tannin content is normal for this stage.

Abbreviations: see legend Figs. 1-8



Dans certains gynécées, un ou plusieurs ovules affichent des signes évidents de dégénérescence plus ou moins précoce, mais l'ovaire peut cependant poursuivre sa croissance. Néanmoins, de nombreux ovaires ont des tissus mortifiés et ne continuent pas leur développement.

2. Localisation des cellules à vacuoles tanniques dans les ovules

Pendant les différentes étapes du développement d'un ovule, les cellules à tanins apparaissent progressivement en des sites très précis (cf. 2.1.). Leur situation et leur densité dans les tissus permettent de reconnaître les ovules sains et ceux qui sont en voie de régression.

2.1. Localisation des cellules à tanins dans un ovule sain au cours de son ontogénèse

— *Stade des ovules méristématiques* (Fig. 10, 11): Les jeunes ovules, dressés sur le placenta au fond de la loge carpellaire, sont totalement dépourvus de tanins.

— *Stade de l'ébauche du tégument interne* (Fig. 12): Les premières vacuoles tanniques apparaissent dans les ovules en cours de grandissement à l'époque où leur sommet amorce sa courbure. A ce stade, un bourrelet circulaire, ébauche du tégument interne, commence à faire saillie à la surface de l'ovule. Cette période correspond à la formation des cellules fertiles (archésopore et plus tard macrospores) au sein du nucelle.

Les cellules tanniques sont localisées uniquement dans l'épiderme dorsal du funicule et plus précisément dans son tiers inférieur proche du placenta. Toutes les cellules de l'épiderme de ce secteur sont concernées par l'accumulation de tanins à l'exclusion de toute cellule du parenchyme sous-jacent.

— *Stade du développement des deux téguments* (Fig. 13, 14): Les deux téguments, interne et externe, s'individualisent pendant que la courbure de l'ovule s'accroît. Dans l'axe du nucelle, la macrospore fertile grandit.

L'accumulation des tanins poursuit sa progression dans l'épiderme dorsal du funicule qui se prolonge par l'épiderme externe du tégument externe. En fait, à ce stade, les tanins sont localisés dans toutes les cellules de recouvrement de l'ovule qui forment une couche continue. Quelques cellules tanniques apparaissent dans le parenchyme de la base du funicule mais aucune cellule du nucelle n'accumule de tanins. De même, la macrospore fertile bien développée à ce stade en est totalement dépourvue.

— *Stade de la mise en place du sac embryonnaire* (Fig. 15): Lorsque l'ovule est presque complètement retourné et le jeune sac embryonnaire en cours d'édification, les cellules tanniques deviennent plus nombreuses dans le parenchyme du funicule. Au niveau de la chalaze, les cellules se chargent rapidement et fortement en tanins. Le gros faisceau libéro-ligneux chalazien n'en possède pas.

— *Stade de la maturité complète* (Fig. 18): Alors que l'ovule a achevé son retournement, que les téguments limitent un étroit micropyle, et que le gaméophyte est apte à recevoir un tube pollinique, le nombre des cellules tanniques est devenu très important. Leur localisation est très précise et caractéristique des ovules de vigne. En effet, seuls, certains tissus sont concernés: toutes les cellules de l'épiderme externe du tégument externe et de l'épiderme interne du tégument interne, un grand nombre de cellules du parenchyme du funicule et de la chalaze, quelques cellules du parenchyme du tégument externe et de l'extrémité micropylaire du tégument interne.

Le nucelle, y compris les deux calottes (épidermique et nucellaire) et l'hypostase sont caractérisés par une totale absence de vacuoles tanniques. Le gaméophyte mûr, allongé dans l'axe micropyle-chalaze et étiré entre la calotte nucellaire et l'hypostase, est essentiellement constitué d'une énorme cellule centrale très vacuolisée et non tannique et, au pôle micropylaire, d'une oosphère et de deux synergides. Ces dernières ont élaboré un imposant appareil filiforme polysaccharidique. Aucune vacuole tannique n'est présente dans ces cellules.

A u t o t a l, les tanins sont complètement absents du gamétophyte et du nucelle; c'est-à-dire des deux tissus qui, dans la suite du développement sont appelés à céder la place à l'embryon et à l'albumen. La transmission d'éventuelles vacuoles tanniques d'un tissu appelé à être digéré (nucelle) vers un autre en cours de formation (albumen) paraît bien difficile et dangereuse pour l'avenir de la graine.

Par contre, les tannins sont présents dans les téguments ovulaires qui persistent sous forme de téguments de la graine (pépin du raisin). Quel est le devenir de leurs tanins vacuolaires? Peut-être participent-ils à la sclérisation et au durcissement des parois cellulaires?

2.2. Localisation des cellules à tanins dans les ovules en cours d'involution: Très tôt au cours de l'ontogenèse, certains ovules manifestent un net déficit tannique. Dans un même ovaire, ce phénomène peut concerner un seul ovule, ou deux ou trois, ou même les quatre.

Cas des jeunes ovules: Dès le stade archéspore ou macrospores, certains ovules présentent une quasi-absence de tanins dans les vacuoles des cellules de l'épiderme externe du funicule alors qu'ils sont déjà présents dans les ovules sains (Fig. 13, 14). Peut-on attribuer un rôle «protecteur» aux tanins normalement et précocement localisés dans les tissus de recouvrement du jeune ovule sain?

D'autres caractères sont concomitants de l'absence ou de la rareté des tanins. Il semble qu'une plasmolyse générale des cellules s'installe. La perte de turgescence se traduit par un affaissement des tissus, particulièrement net au niveau des épidermes, dont les surfaces cellulaires sont déprimées. Seul, le cadre pariétal se maintient et assure encore une certaine rigidité à la périphérie de chaque cellule. De ce fait, les épidermes observés sur des coupes orthogonales à la surface ont un aspect crénelé caractéristique. Les cellules épidermiques et de nombreuses cellules nucellaires sont en voie de dégénérescence et très souvent, dans ces ovules jeunes, il est difficile de repérer la lignée fertile, sauf dans les tout premiers stades où le développement de l'archéspore se poursuit.

Ultérieurement, selon l'absence ou la présence de cellules fertiles au sein du nucelle, ou leur degré de perturbation, deux possibilités d'évolution s'observent: soit les jeunes ovules se dessèchent complètement et tombent prématurément, soit ils poursuivent difficilement leur croissance.

Cas des ovules plus âgés (Fig. 17, 18): Lorsque les ovules poursuivent leur évolution, le déficit tannique s'accroît. Les ovules continuent de grandir et forment un sac embryonnaire mais ce gamétophyte ne contient, en fin d'élaboration, que des cellules dégénérantes.

Les cellules des tissus stériles de l'ovule présentent deux types d'anomalies. D'une part, dans tous les tissus où les cellules devraient contenir des vacuoles tanniques, on note un très fort déficit, voire une totale absence de tanins dans ces cellules: soit, elles en sont dépourvues et tout le cytoplasme est dégradé, soit, les cellules ont accumulé des tanins, et la mort cellulaire par rupture du tonoplaste a entraîné leur dispersion dans tout le volume cellulaire (Fig. 17) et les tissus se nécrosent. D'autre part, les cellules avec peu ou pas de tanins sont très plasmolysées, ce qui entraîne le même aspect déprimé de la surface cellulaire que dans les jeunes ovules. Les tanins jouent-ils un rôle dans la rétention de l'eau et la turgescence cellulaire?

Les ovules touchés par un déficit tannique couplé à un déficit hydrique peuvent poursuivre leur évolution: le nombre et l'agencement des cellules semblent normaux, mais la plasmolyse généralisée à l'ensemble des tissus ovulaires retentit sur la taille des ovules. Quel que soit le stade envisagé, les ovules privés de tanins sont plus petits que les ovules à développement normal. A titre d'exemple, le tégument interne est toujours constitué d'une assise de cellules parenchymateuses bordée de chaque côté par une assise épidermique, mais l'épaisseur totale de ces trois assises, présentes quel que soit l'état de l'ovule, peut varier du simple au double. De surcroît, sous l'effet de la plasmolyse il se produit un décollement des téguments ovulaires entre eux et un décollement entre le tégument interne et le nucelle (Fig. 17, 18, astérisques), et le micropyle est anormalement ouvert (Fig. 17, tête de flèche).

3. Localisation des cellules à vacuoles tanniques dans les tissus de l'ovaire

3.1. Avant la floraison

— *Stade des jeunes boutons* (Fig. 10, 12): Dès les très jeunes stades (Fig. 10), alors que les ovules sont encore méristématiques, les différents tissus de l'ovaire commencent à se charger en tanins (FOUGÈRE-RIFOT et BOUARD 1992).

D'emblée, les cellules de l'épiderme externe des carpelles sont abondamment pourvues en tanins vacuolaires. Par contre, l'épiderme interne, qui borde les loges carpellaires, en est totalement dépourvu (Fig. 11).

De nombreuses cellules du parenchyme carpellaire sont des cellules tanniques. Ces cellules sont rarement isolées, mais plutôt rassemblées en amas ou en files de plusieurs unités. Dans les stades jeunes, la columelle n'est pas encore vascularisée. Au delà du sommet de la columelle, les cellules du style nettement alignées sont riches en tanins (Fig. 10, 12).

— *Stade proche de la chute du capuchon* (Fig. 13, 16): A l'approche de la floraison, le stigmate massif, aux papilles courtes et très tanniques, est constitué par un faisceau de nombreuses files de 7-10 cellules dont les plus externes sont les cellules papilleuses destinées à capter les grains de pollen. La teneur en tanins décroît dans les cellules stigmatiques en s'éloignant du style; une dépression est très apparente au centre du stigmate (Fig. 16).

Au niveau du réceptacle floral et de la zone placentaire, les cellules sont également tanniques, mais leur charge est plus faible.

Il est important de remarquer que la localisation des cellules tanniques de l'ovaire et leur teneur en tanins ne changent pas avec l'aptitude à se développer ou au contraire à régresser d'un ou plusieurs ovules.

Fig. 15: Merlot. Coupe longitudinale d'un ovaire plus âgé. Les cellules de la columelle et les papilles stigmatiques ont une forte charge tannique. Les cellules du funicule accumulent des tanins. Les ovules élaborent le sac embryonnaire.

Fig. 16: Merlot. Style et stigmate d'un ovaire en coupe longitudinale juste avant la chute du capuchon. L'agencement des cellules de la zone axiale du style et celles du stigmate est parfaitement régulier. Les papilles stigmatiques renferment des tanins. Une dépression occupe le centre du stigmate.

Fig. 17: Merlot. Coupe longitudinale d'un ovule dégénéré et plus âgé. Il présente les mêmes symptômes que le stade jeune. De plus le micropyle est béant (grande tête de flèche). Le sac embryonnaire est formé mais toutes les cellules gamétophytiques sont nécrosées. N.B. Les tissus mortifiés sont très difficiles à conserver lors de la préparation des tissus.

Fig. 18: Cabernet Sauvignon. Coupe longitudinale de deux ovules au même stade que celui de la Fig. 17. Dans la même loge carpellaire, un ovule est sain (OS) et un ovule est en cours d'involution (OI). L'ovule sain possède des cellules tanniques en des sites bien caractéristiques notamment l'épiderme externe du tégument externe (grandes têtes de flèche) et l'épiderme interne du tégument interne (petites têtes de flèche). Le décollement des téguments est très apparent dans l'ovule en involution (astérisque).

Abréviations: voir légende Fig. 1 à 8.

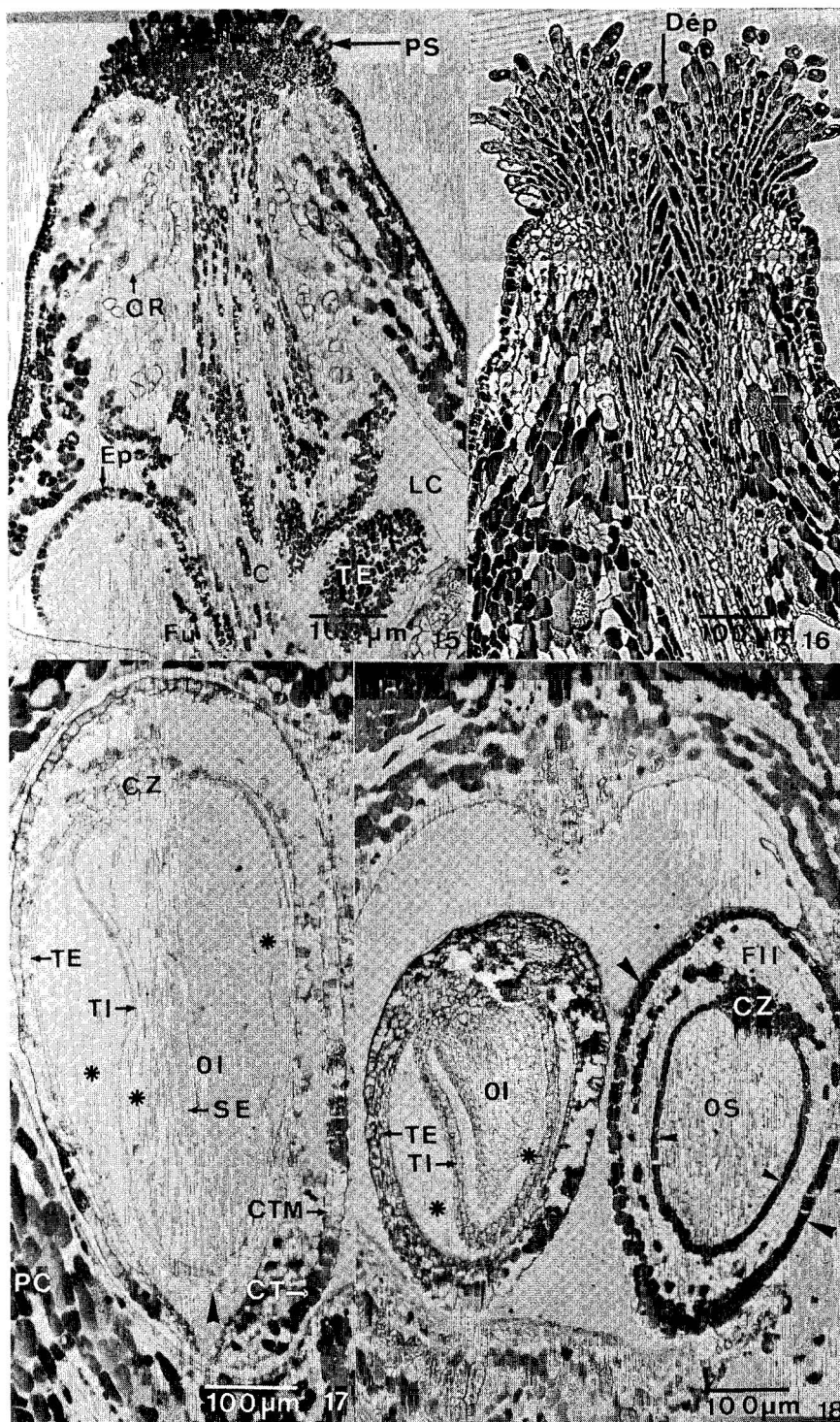
Fig. 15: Longitudinal section of an older ovary. Columellar cells and papillate stigmatic cells have high amount of tannins. Funicular cells amass tannins. Ovules build an embryo sac.

Fig. 16: Longitudinal section. Style and stigma of an ovary just before calyptra fall. Stigmatic papilla have tannins. A deep crevice locates in the stigma center.

Fig. 17: Longitudinal section of a degenerating ovule. Symptoms are the same as those of young ovules. In addition, look at wide-open micropyle (big arrowhead). Embryo sac is built but all gametophytic cells are dead. N.B. It is very difficult to conserve mortified tissues during preparation for microscopic observations.

Fig. 18: Longitudinal section. Two ovules are as old as the one on Fig. 17 within the same ovarian cavity, one ovule is healthy (OS) and another is in bad condition (OI). Healthy ovule has tannic cells at characteristic locations, in particular inside external epidermal cells of the outer integument (big arrowheads) and in internal epidermal cells of the inner integument (small arrowheads). See large space between integuments and between inner integument and nucellus (asterisk).

Abbreviations: see legend Figs. 1-8.



3.2. Après la floraison : A l'époque de la floraison, des faisceaux libéro-ligneux se différencient dans la columelle et certains pénètrent dans le funicule des ovules. Les cellules du parenchyme ligneux, alignées et allongées le long des trachéides, renferment d'énormes vacuoles tanniques. Elles contrastent fortement avec les trachéides.

Le nombre de cellules de l'ovaire qui accumulent des tannins s'est considérablement accru. Presque toutes les cellules des parois carpellaires et de la columelle ont des vacuoles tanniques. Cependant, quelques îlots de cellules de parenchyme et les cellules conductrices en demeurent dépourvues.

Progressivement, après la nouaison, l'ovaire se transforme en baie. RAJAEI (1987) a fait un relevé et un classement des différents aspects que prennent les accumulations de tanins vacuolaires dans les baies de raisin, et plus particulièrement dans les cellules de l'hypoderme. Les tanins sont présent dans les tissus qui évoluent pour constituer la baie du raisin, partie essentielle lors de la vinification; or, il faut remarquer que la teneur en tanins dans les ovaires qui poursuivent leur développement est indépendante de l'état d'évolution des ovules, aussi bien de l'état de maturité des ovules, concomitant de celui de l'ovaire, que de l'état sain ou morbide des ovules.

En définitive, de l'étude que nous avons faite, il semble ressortir clairement, que les tanins pourraient être un marqueur de la vitalité des ovules. Leur présence serait un signe de développement normal et, à l'inverse, leur absence présagerait une involution plus ou moins précoce.

Références bibliographiques

- ALSAIDI, I.; 1975: Recherches physiologiques, histologiques et cytologiques sur les bourgeons latents de la vigne (*Vitis vinifera* L. var. Ugni blanc) au cours de leur cycle végétatif. Thèse Univ. Bordeaux I, France.
- BAGGIOLINI, M.; 1952: Les stades repères dans le déroulement annuel de la vigne. Rev. Romande Agric. Vitic. 8, 4-6.
- BOUARD, J.; 1978: Possibilités de développement des ovules et qualité des pépins de raisin en fonction du rang des grappes sur les sarments. In: II. Symp. Intern. Amélior. Vigne, 14-18 Juin 1977, Bordeaux, France, 59-67.
- FOUGÈRE-RIFOT, M.; Bouard, J.; 1992: Evolution de l'ovaire en rapport avec la coulure chez deux variétés de *Vitis vinifera* L., le Merlot et le Chardonnay. In: De la Vigne au Vin: Les Actualités de la Recherche, INRA-VITI 92, 22-26.
- RAJAEI, H.; 1987: Changements cytochimiques et ultrastructuraux des parois cellulaires de la pellicule du raisin, *Vitis vinifera*, durant la croissance et la maturation de la baie. Can. J. Bot. 65, 1343-1355.
- REYNOLDS, E. S.; 1963: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. 17, 208-212.

Reçu le 6 Novembre 1992