

## **Relations entre l'ultrastructure des plastes et les phases du cycle végétatif des bourgeons latents de la vigne (*Vitis vinifera* L. var. Ugni blanc)**

par

I. ALSAIDI, C. SUIRE et J. BOUARD

### **Relationships between the ultrastructure of plastids and the phases of the vegetative cycle of latent buds of the vine (*Vitis vinifera* L. var. Ugni blanc)**

**S u m m a r y .** — Salient features in the development of plastids and starch of the central bud into dormant buds of the vine occur during the stages of dormancy called „entrée en dormance“ and „levée de dormance“. Prolamellar bodies differentiate into plastids during the first stage and starch is hydrolysed during the later one. Starch changes in the plastids of central buds occur in agreement with the changes of glucid amounts in shoots.

### **Introduction**

Depuis quelques dizaines d'années, de nombreuses recherches ont été consacrées à la morphogenèse et à la dormance des yeux latents de la vigne. Réalisés sur différents cépages et sous des conditions climatiques variées, ces travaux ont permis de suivre le développement des primordiums inflorescentiels (SNYDER 1933, ALLEWELDT et BALKEMA 1965, VLACHOS 1966, CAROLUS 1970, TOURMEAU 1976) et de distinguer plusieurs étapes dans le cycle végétatif des bourgeons (KONDO 1955, POUGET 1963 et 1972, NIGOND 1966).

Dans la région de Bordeaux, le cycle végétatif des bourgeons latents du Merlot a été subdivisé par POUGET (1963) en six phases distinctes (pré-dormance, entrée en dormance, dormance, levée de dormance, post-dormance et pré-débourrement) caractérisées chacune par des propriétés physiologiques particulières. Plus tard, CAROLUS (1970) a distingué douze stades successifs dans l'organogenèse des bourgeons de ce même cépage et a montré que leur développement cessait à la fin de la phase de pré-dormance.

A la suite de ces travaux, il nous a paru intéressant de voir si les phases déjà définies au point de vue physiologique pouvaient également être caractérisées par des critères cytologiques. Nous résumons ici les résultats obtenus sur l'évolution des plastes du bourgeon principal et de leurs inclusions amylacées au cours de la phase d'organogenèse et de la phase non organogène qui lui fait suite.

### **Matériel et méthodes**

L'étude histologique et structurale a été menée sur la variété Ugni blanc, les rameaux utilisés provenant du domaine de la Grande Ferrade (Station de recherches

de Viticulture, I.N.R.A., Bordeaux). Les yeux latents ont été prélevés sur les noeuds de rang 5 dépourvus d'organes oppositifoliés. Au total, 35 prélèvements ont été effectués de façon à couvrir la totalité d'un cycle annuel, du débourrement (début avril) au débourrement suivant. Le bourgeon principal de chaque oeil (Fig. 1) a été isolé et les échantillons ainsi obtenus ont été immédiatement immergés dans le fix-

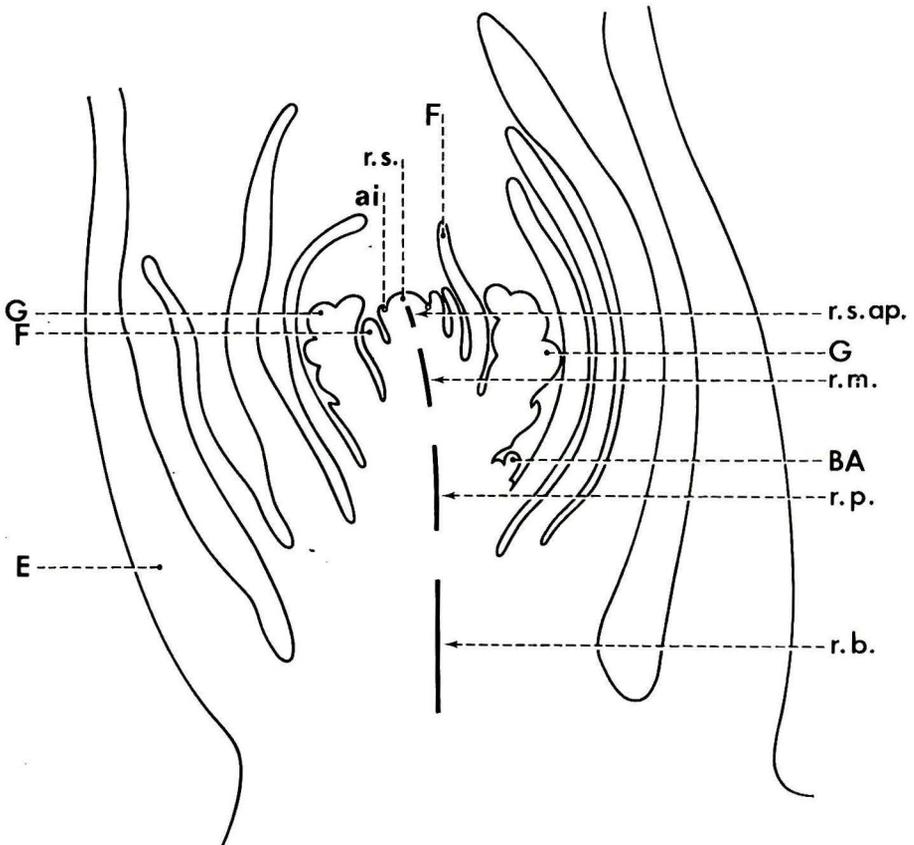


Fig. 1: Coupe longitudinale axiale schématique du bourgeon principal de l'oeil latent.

A = apex du bourgeon principal  
 ai = anneau initial  
 BA = bourgeon axillaire  
 E = écaille  
 F = primordium ou ébauche foliaire  
 G = ébauche de grappe

r.b. = région basale du bourgeon  
 r.m. = région moyenne  
 r.p. = région profonde  
 r.s. = région sommitale  
 r.s.ap. = région subapicale

Diagram of a section along the major axis of the central part of a dormant bud.

A = apex of the central bud  
 ai = ring in which leaves are taking shape  
 BA = axillary bud  
 E = bud scale  
 F = young leaf  
 G = young cluster

r.b. = basis of the central bud  
 r.m. = middle part of the bud  
 r.p. = deeper part  
 r.s. = top of the bud  
 r.s.ap. = near the top

ateur. L'élimination des bulles d'air résiduelles a été assurée en maintenant le fixateur à l'ébullition sous un vide partiel pendant quelques instants.

Les objets destinés à l'étude histologique ont subi des traitements appropriés au but poursuivi. Certains de ces objets (Fig. 3) ont été préfixés 12 h à 22 °C par une solution à 3 % de glutaraldéhyde dans un tampon  $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.1 M, pH 7.20. Après lavage, ils ont été imprégnés 12 h par une solution à 2 % d' $\text{OsO}_4$  dans le même tampon, puis inclus à la paraffine et colorés par une laque ferrique d'hématoxyline.

Les objets destinés à l'étude cytologique ont été préfixés 3 h à 4 °C dans la même solution de glutaraldéhyde et imprégnés 2 h à 22 °C dans la solution osmique. Après déshydratation progressive à l'éthanol, ils ont été inclus dans l'Epon selon la technique de LUFF (1961). Certaines coupes semi-fines (Fig. 2) ont été colorées par une solution aqueuse à 1 % de violet de gentiane après court mordantage à l'eau iododurée. Les coupes fines ont été contrastées par un flottage de 3 min sur une solution d'acétate d'uranyle à demi-saturation dans l'éthanol à 50 %, puis pendant un même temps sur une solution de citrate de plomb (REYNOLDS 1963). Les observations ont été effectuées avec un microscope électronique R.C.A. type EMU 3 G de l'Institut de Microscopie électronique de l'Université de Bordeaux I.

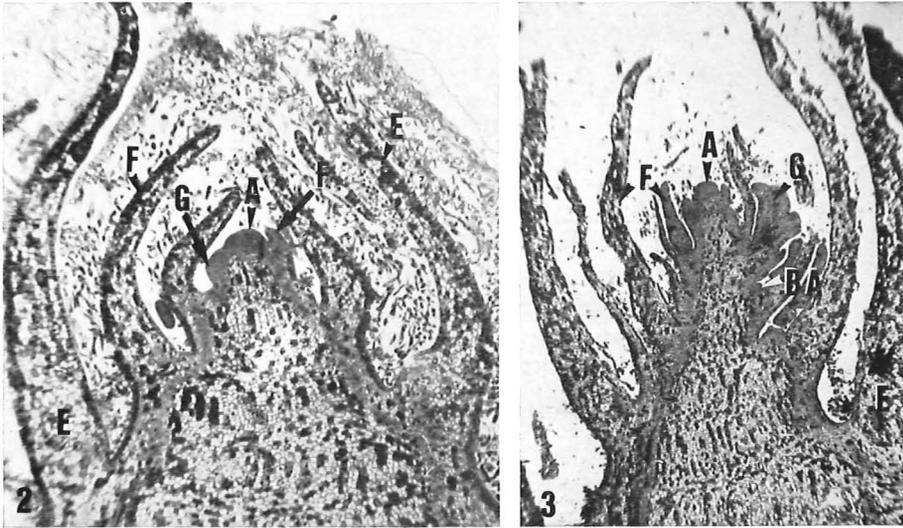


Fig. 2: Période organogène (12 juin). Coupe longitudinale axiale du bourgeon principal. Fixation glutaraldéhyde-osmium. Inclusion Epon. Coupe de 1,5  $\mu\text{m}$  colorée au violet de gentiane. Initiation du premier primordium inflorescentiel. G =  $\times 46$ .

Fig. 3: Période non organogène (2 août). Coupe longitudinale axiale du bourgeon principal. Fixation glutaraldéhyde-osmium. Inclusion paraffine. Coupe de 4  $\mu\text{m}$  colorée à l'hématoxyline ferrique. G =  $\times 29$ .

Abréviations voir Fig. 1.

Fig. 2: Organogenesis (12th June). Section along the major axis of the central bud. Fixation with glutaraldehyde and osmium. Epon embedding. Section 1,5  $\mu\text{m}$  thick coloured with gentian violet. The first leaf takes shape. M =  $\times 46$ .

Fig. 3: No organogenesis (2nd August). Section along the major axis of the central bud. Glutaraldehyde-osmium fixation. Paraffin embedding. Section 4  $\mu\text{m}$  thick coloured with ferric hematoxylin. M =  $\times 29$ .

Abbreviations see Fig. 1.

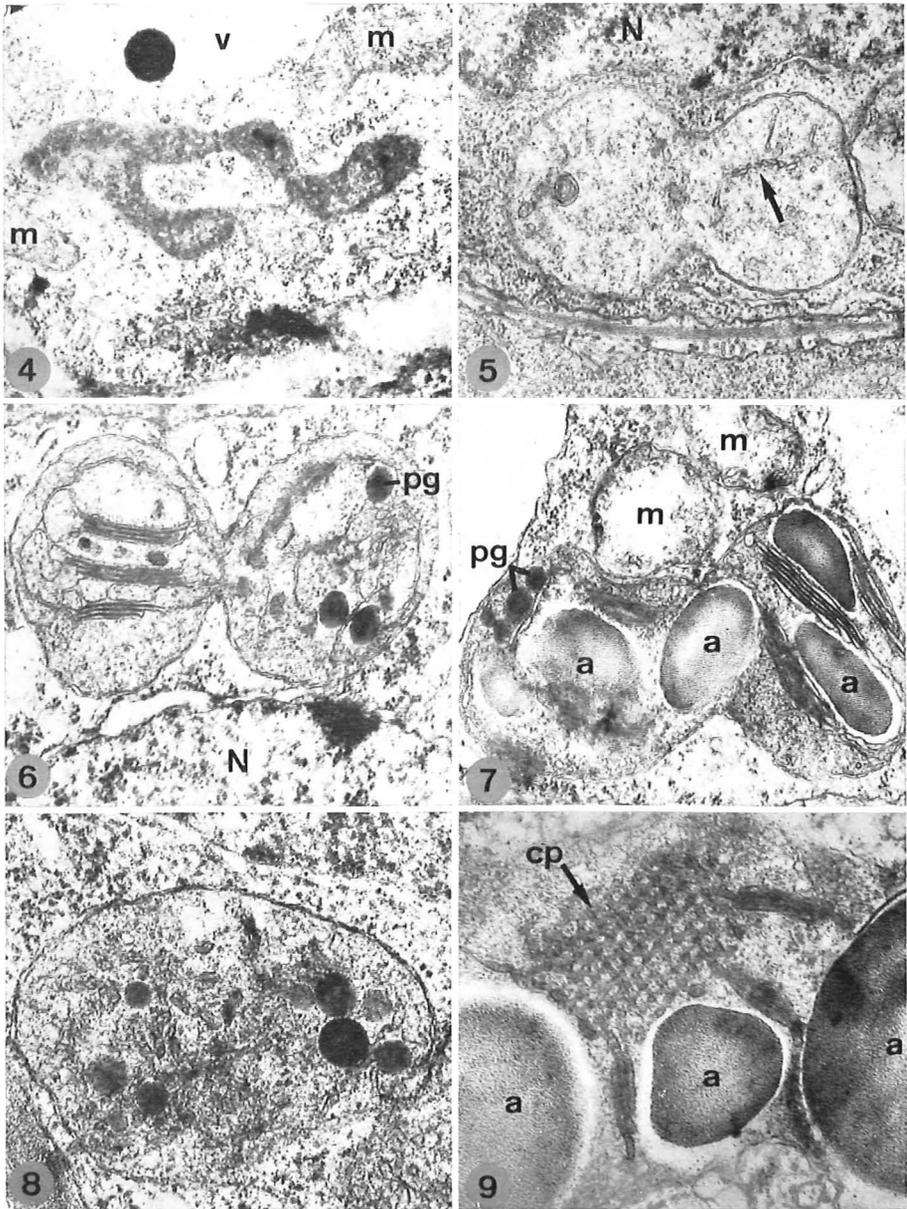


Fig. 4—13: Bourgeon principal de l'oeil latent de *Vitis vinifera* L. var. Ugni blanc. Fixation glutaraldéhyde-osmium. Inclusion Epon. Contraste uranyle-plomb. — a = amidon, ah = inclusions amy lacées hydrolysées, cp = corps prolamellaire, m = mitochondrie, N = noyau, ol = oléosome, p = plaste, pg = plastoglobule, v = vacuole.

Fig. 4: Période organogène (14 mai). Zone profonde de l'oeil latent. Plaste polymorphe à stroma densifié. G =  $\times 14000$ .

Fig. 5: Période organogène (28 mai). Zone latérale du bourgeon principal, à l'aisselle d'un primordium foliaire. Proplaste à système lamellaire réduit. G =  $\times 22500$ .

## Résultats et discussion

### A — Evolution des plastes au cours de la période organogène

L'oeil latent en cours d'organisation repose sur des tissus plus différenciés pourvus de plastes polymorphes à stroma densifié (Fig. 4). Le bourgeon principal est dégagé très tôt et un gradient de différenciation s'établit en direction acrofuge, depuis le sommet du méristème jusqu'aux ébauches foliaires les plus externes. L'initiation de nouveaux primordiums est la conséquence de l'activation de la zone de l'anneau initial (BUVAT 1952) située à l'aisselle de la dernière pièce formée. Dans cette zone hautement méristématique (Fig. 1, ai), les plastes sont à l'état de proplastid (Fig. 5): Leur système lamellaire est réduit à quelques saccules de forme irrégulière et ils ne semblent pas synthétiser d'amidon.

La différenciation cellulaire se traduit au niveau des plastes par une extension de leur lamellisation et une accumulation d'amidon d'autant plus accusée que les cellules sont plus éloignées du sommet. Ainsi, à la fin du mois de mai, le bourgeon principal a initié quatre à six ébauches foliaires. Les ébauches les plus âgées sont pourvues de plastes généralement globuleux dans lesquels le système lamellaire atteint une organisation granulaire (Fig. 6).

L'initiation des pièces fertiles s'effectue pendant la période de pré-dormance (mi-juin à fin juillet). A la fin du mois de juin, le bourgeon principal a initié deux ou trois nouvelles ébauches foliaires et deux ébauches inflorescentielles. Les plastes sont d'autant plus amylofères qu'ils sont plus éloignés du sommet de l'apex et ceux

Fig. 6: Période organogène (28 mai). Région moyenne d'une ébauche foliaire. Début d'identification de granums dans un plaste en cours de bipartition. G =  $\times 25000$ .

Fig. 7: Fin de la période organogène (12 juin). Zone axiale profonde du bourgeon principal. Plaste avec granums, plastoglobules et inclusions amylofères osmiophiles. G =  $\times 26000$ .

Fig. 8: Période non organogène, entrée en dormance (2 août). Zone subapicale du bourgeon. Début de différenciation d'un corps prolamellaire. G =  $\times 50000$ .

Fig. 9: Entrée en dormance (8 août). Parenchyme médullaire. Plaste avec corps prolamellaire, granums peu développés et volumineux inclusions amylofères osmiophiles. G =  $\times 50000$ .

Figs. 4—13: Central bud of the dormant bud of *Vitis vinifera* L. var. Ugni blanc. Glutaraldehyde-osmium fixation. Epon embedding. Sections contrasted with uranyl acetate and lead citrate. — a = starch granule, ah = lysed starch, cp = prolamellar body, m = mitochondrion, N = nucleus, ol = lipid droplet, p = plastid, pg = plastoglobule, v = vacuole.

Fig. 4: Organogenesis (14th May). Deep area of the dormant bud. A polymorphous plastid with dense stroma. M =  $\times 14000$ .

Fig. 5: Organogenesis (28th May). Side part of the central bud near a young leaf. A young plastid. M =  $\times 22500$ .

Fig. 6: Organogenesis (28th May). Middle part of a young leaf. Young grana in a dividing plastid. M =  $\times 25000$ .

Fig. 7: End of organogenesis (12th June). Plastids from the basis of the central bud. M =  $\times 26000$ .

Fig. 8: „Entrée en dormance“ (2nd August). Young prolamellar body in a plastid near the top of the bud. M =  $\times 50000$ .

Fig. 9: „Entrée en dormance“ (8th August). A plastid from pith showing a prolamellar body and large starch granules blackened with osmium. M =  $\times 50000$ .

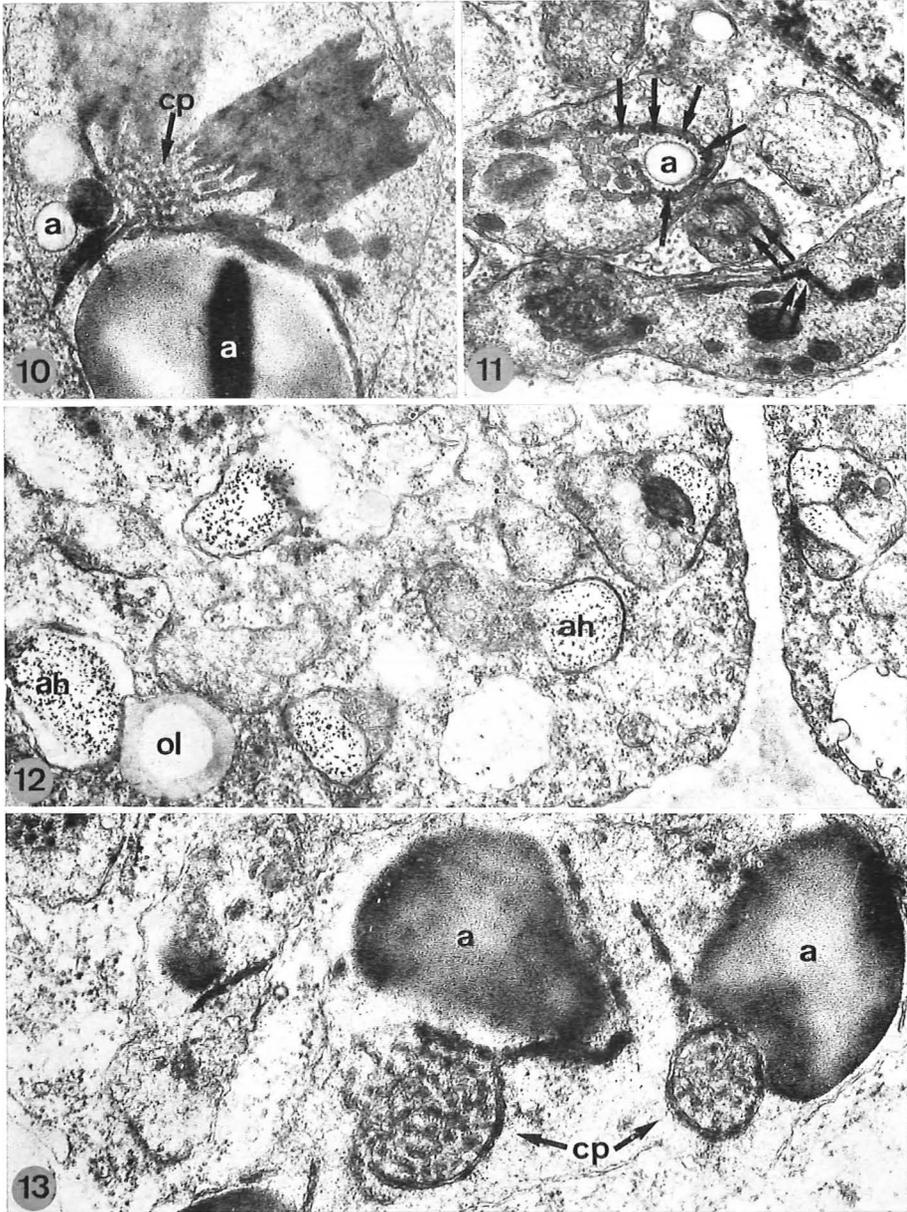


Fig. 10: Dormance (15 octobre). Parenchyme médullaire. Par comparaison avec la Fig. 9, noter l'augmentation du nombre des thylacoïdes granaires et l'accroissement de l'osmiophilie de leur contenu.  $G = \times 35000$ .

Fig. 11: Levée de dormance (5 novembre). Sommet de l'apex. Les flèches indiquent les fibrilles associées à la face interne d'enroulement du saccule limitant le corps prolamellaire. Les inclusions amylicées ne sont pas osmiophiles.  $G = \times 35000$ .

des pièces les plus âgées apparaissent déformés par de volumineuses inclusions amylicées (Fig. 7).

Aucune activité prolifératrice ne se manifeste au-delà de la fin du mois de juillet. A ce moment, le bourgeon principal a initié une dizaine d'ébauches foliaires et cinq organes oppositifoliés, dont deux ou trois inflorescences.

### B — Evolution de la structure plastidiale au cours de la période non organogène

Le début de la période d'entrée en dormance est marqué au niveau des plastes du bourgeon principal par la différenciation de corps prolamellaires. Il est à remarquer que le niveau d'organisation de ces corps s'accroît en direction acrofuge comme le degré de différenciation cellulaire qui se manifeste dans le bourgeon.

— Dans les primordiums foliaires, les plus jeunes ébauches et la zone subapicale du bourgeon principal, des ensembles de tubules sinueux à contenu finement granuleux se différencient dans le stroma plastidial (Fig. 8). Par la suite, l'osmiophilie de ces tubules augmente ainsi que celle de longs saccules analogues à des thylacoïdes stromatiques, mais les corps prolamellaires qui se différencient dans cette région du bourgeon ne parviennent pas à l'état paracristallin bien connu dans les étioplastes de nombreux Spermatophytes. Pendant la phase de dormance (mi-août-début novembre), ces saccules allongés apparaissent irrégulièrement dilatés et bourgeonnent des vésicules denses. Pendant la levée de dormance, les corps prolamellaires se présentent sur les coupes soit comme des groupes de vésicules issues des saccules, soit comme des ensembles de tubules. Ces tubules sont soit isolés, soit abouchés à la paroi interne d'un saccule enroulé en crosse dans la concavité duquel ils sont alors rassemblés (Fig. 11). En outre, un système microfibrillaire est associé à la face interne d'enroulement du saccule (Fig. 11). Les corps prolamellaires paraissent conserver cette organisation jusqu'au débourrement.

Il est possible que les microfibrilles mises en évidence et dont l'existence est sans doute transitoire, assurent, temporairement, une certaine cohésion entre les éléments tubuleux du corps prolamellaire et qu'elles aient ainsi une fonction analogue à celle des fibrilles qui se développent entre les enveloppes du plaste et de la mitochondrie basale dans les spermatides de *Pellia epiphylla* (SUIRE 1970). Les

Fig. 12: Levée de dormance (12 novembre). Région moyenne du bourgeon. Les inclusions amylicées hydrolysées ont un aspect caractéristique.  $G = \times 13500$ .

Fig. 13: Pré-débourrement (15 mars). Primordium foliaire. Deux semaines environ avant le débourrement, les corps prolamellaires ne sont pas parvenus à une organisation paracristalline dans cette région du bourgeon.  $G = \times 36000$ .

Fig. 10: Dormancy (15th October). Pith. Compare with Fig. 9 and note the increasing number of plastid lamellae and the blackening of the lamellae content.  $M = \times 35000$ .

Fig. 11: „Levée de dormance“ (5th November). Top of the bud. The arrows indicate small fibers associated to the inner side of rolling of the lamellae which bounds the prolamellar body. Starch granules are no longer osmiophilic.  $M = \times 35000$ .

Fig. 12: „Levée de dormance“ (12th November). Middle part of the bud. Starch granules are lysed.  $M = \times 13500$ .

Fig. 13: „Pré-débourrement“ (15th March). A young leaf about two weeks before the bud burst. The prolamellar bodies do not attain a paracrystalline organization.  $M = \times 36000$ .

seuls autres organites dont l'association ait été signalée avec les corps prolamellaires sont des ribosomes (SALEMA *et al.* 1972). Par ailleurs, les corps prolamellaires non paracrystallins qui ont été observés chez le pêcheur (EYMÉ 1971) et d'autres Spermatophytes sont à l'origine d'enclaves protéiques ou lipoprotéiques.

— Dans les ébauches foliaires et les zones latérales de la région moyenne du bourgeon, les corps prolamellaires s'organisent en ensembles subsphériques à partir de fin décembre, au cours des phases de post-dormance et de pré-débourrement. Il se constitue alors dans chaque plaste plusieurs groupes de tubules qui tendent à se disposer en couches concentriques à l'intérieur d'un saccule auquel les tubules sont connectés (Fig. 13). Le saccule se prolonge dans le stroma, généralement à la périphérie d'une inclusion amyliacée. Il ne semble pas fenestré comme les thylacoïdes primaires (SALEMA *et al.* 1972) mais son contenu osmiophile est irrégulièrement dispersé (Fig. 13). Il est vraisemblable que les corps prolamellaires subsphériques persistent en cet état jusqu'au débourrement.

Par ailleurs, le système lamellaire des plastides de ces régions du bourgeon atteint une organisation granulaire pendant la période organogène. En outre, aucune relation n'a été observée entre le saccule externe du corps prolamellaire et les thylacoïdes impliqués dans le système granulaire. Il semble donc que les corps prolamellaires non paracrystallins n'aient pas le rôle organisateur de leurs homologues paracrystallins. — Dans la région médullaire de la base du bourgeon, les corps prolamellaires parviennent à une organisation paracrystalline. Il ne paraît se former qu'un seul corps prolamellaire par plaste et ce corps s'organise très rapidement en un réseau régulier. Dans un plan de coupe favorable, il se présente comme une trame constituée par le croisement, selon un angle de 65° environ, de séries parallèles de tubules pourvus de renflements noduleux d'environ 18 nm de diamètre. La distance centre à centre de deux nodules voisins est de l'ordre de 45 nm (Fig. 9). Certains éléments de cet ensemble sont reliés à des thylacoïdes stromatiques (Fig. 10 et 11) et ces connexions persistent vraisemblablement jusqu'au débourrement des bourgeons.

Pendant la phase de dormance, le nombre de thylacoïdes s'accroît (comparer la Fig. 9 et la Fig. 10) et l'osmiophilie des corps prolamellaires augmente. Début octobre, elle atteint celle des plastoglobules et des membranes, si bien que les loculus intraplastidiaux sont indistincts de leur paroi après fixation osmique (Fig. 10).

En conclusion, il faut souligner que la formation des corps prolamellaires est caractéristique de la phase d'entrée en dormance des bourgeons et que leur degré d'organisation progresse dans le même sens que le gradient de différenciation cellulaire du bourgeon. Ces constituants ne se retrouvent pas dans les organes en croissance et il est donc vraisemblable qu'ils se désorganisent rapidement sous l'influence de la lumière.

### C — Evolution des réserves amyliacées des bourgeons au cours de leur cycle végétatif

Les glucides insolubles des entrenoeuds des rameaux principaux de l'Ugni blanc subissent une évolution très caractéristique au cours du cycle végétatif (BOUARD 1966 et 1967). Schématiquement, on peut dire que leur teneur, dans les entrenoeuds de la base de ces rameaux, augmente rapidement jusque fin octobre, diminue ensuite fortement jusque fin décembre et augmente de nouveau jusqu'au débourrement. Une évolution du même type se produit dans les bourgeons. En effet, les observa-

tions qui ont été effectuées tout au long du cycle végétatif ont permis de mettre en évidence les faits suivants:

- L'amidon demeure osmiophile jusqu'à la mi-octobre (Fig. 7, 9 et 10). Son osmiophilie s'affaiblit au cours de la seconde quinzaine du mois d'octobre et elle est nulle au commencement de novembre (Fig. 11), début de la levée de dormance. Sur un autre matériel, SUIRE (1970) a constaté que la diminution de l'osmiophilie des inclusions amyli-fères était en relation avec un affaiblissement de l'activité synthétique. Dans le bourgeon de vigne, la disparition de l'osmiophilie annonce la fin de la phase de dormance (fin octobre) et l'arrêt de la synthèse d'amidon dans les rameaux.
- La phase de levée de dormance (première quinzaine du mois de novembre) est annoncée par l'apparition des aspects typiques d'une hydrolyse des réserves amy-lacées (Fig. 12) dans les plastes de la région moyenne (Fig. 1, r. m.) et de la base du bourgeon. Au même moment, la teneur en glucides insolubles des rameaux amorce une chute importante. Ces phénomènes d'hydrolyse se poursuivent durant la phase de post-dormance dans le bourgeon principal comme dans les rameaux.
- Les synthèses ultérieures sont également concomitantes: à partir de la fin du mois de décembre, les plastes accumulent à nouveau des réserves amy-lacées osmiophiles et la teneur des rameaux en glucides insolubles augmente régulièrement.

Il existe un parallélisme rigoureux entre les interprétations suggérées par les variations des inclusions amy-lacées des plastes du bourgeon principal de l'oeil latent et les dosages des glucides insolubles extraits des rameaux. Ces fluctuations caractéristiques du métabolisme glucidique se produisent pendant les mêmes périodes du cycle annuel, ce qui suggère qu'elles sont sous la dépendance, au moins partielle, d'un rythme interne dont la raison nous échappe encore.

### Résumé

Les phases d'entrée en dormance et de levée de dormance des yeux latents de la vigne coïncident de façon remarquable avec l'apparition des stades caractéristiques de l'évolution des plastes du bourgeon principal ou des inclusions amy-lacées. C'est ainsi que des corps prolamellaires se différencient dans les plastes du bourgeon principal lors de l'entrée en dormance de l'oeil et que la levée de dormance est concomitante de l'apparition des aspects typiques d'une hydrolyse des réserves amy-lacées dans les plastes du bourgeon. En outre, l'évolution *in situ* des inclusions amyli-fères dans le bourgeon correspond aux fluctuations des taux des glucides des rameaux.

### Références bibliographiques

- ALLEWELDT, G. und BALKEMA, G. H., 1965: Über die Anlage von Infloreszenz- und Blütenprimordien in den Winterknospen der Rebe. Z. Acker- Pflanzenbau 123, 59—74.
- BOUARD, J., 1966: Recherches physiologiques sur la vigne et en particulier sur l'aou'tement des sarments. Thèse Doct. Sci. Nat., Bordeaux.
- — , 1967: Variations de la teneur en glucides de la base des sarments de vigne au cours d'un cycle végétatif complet: existence d'un rythme endogène. C. R. Acad. Sci. Paris, 264 D, 1860—1863.
- BUVAT, R., 1952: Structure, évolution et fonctionnement du méristème apical de quelques dicotylédones. Annales Sci. Nat. Bot. 11, 199—300.
- CAROLUS, M., 1970: Recherches sur l'organogenèse et l'évolution morphologique du bourgeon latent de la vigne (*Vitis vinifera* L., var. Merlot). Thèse 3ème cycle, Sci. Biol., Bordeaux.

- EYMÉ, J., 1971: La structure des plastes dans les parenchymes des coupes réceptaculaires du pêcher *Prunus persica* chez les variétés à chair blanche et à chair jaune. C. R. Acad. Sci. Paris, 272 D, 1232—1235.
- KONDO I. N., 1955: Les conditions de la dormance des bourgeons de la vigne (en russe). Dokl. Acad. Nauk S.S.S.R. 102, 633—636.
- LUFT, J. H., 1961: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 409—414.
- NIGOND, J., 1966: Recherches sur la dormance des bourgeons de la vigne. Thèse Doct. Sci. Nat., Paris.
- POUGET, R., 1963: Recherches physiologiques sur le repos végétatif de la vigne (*Vitis vinifera* L.): la dormance des bourgeons et le mécanisme de sa disparition. Thèse Doct. Sci. Nat., Bordeaux.
- — , 1972: Considérations générales sur le rythme végétatif et la dormance des bourgeons de la vigne. *Vitis* 11, 198—217.
- 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.
- SALEMA, R., MESQUITA, J. F. and ABREU, I., 1972: Particular aspects of the construction of photo-synthetic membranes. J. Submicrosc. Cytol. 4, 161—169.
- SNYDER, J. C., 1933: Primordial development of the inflorescence of the Concord grape. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci 30, 247—252.
- SUIRE, C., 1970: Recherches cytologiques sur deux hépatiques: *Pellia epiphylla* (L.) CORDA (Metz-gériale) et *Radula complanata* (L.) DUM. (Jungermanniale). Ergastome, sporogénèse et spermatogénèse. Le Botaniste 53, 125—392.
- TOURMEAU, J., 1976: Différenciation des ébauches florales chez la vigne. D.E.S., Dijon.
- VLACHOS, M., 1966: Recherches sur la différenciation et la fertilité des bourgeons latents de quelques cépages de *Vitis vinifera* (en grec). Thessalonique, 98 pp.

Eingegangen am 7. 5. 1979

I. ALSAIDI, J. BOUARD  
Laboratoire de Physiologie  
Végétale et Ampélogie  
Université de Bordeaux I,  
Avenue de Facultés  
33405 Talence cedex  
France

C. SUIRE  
Laboratoire de Botanique  
Avenue des Facultés  
Université de Bordeaux I  
33405 Talence cedex  
France