J. Int. Sci. Vigne Vin, 1997, **31**, n°3, 109-118

ONTOGENÈSE DU PÉRICARPE DE LA BAIE DE *VITIS VINIFERA* L. VAR. MERLOT DE LA FÉCONDATION A LA MATURITÉ

BERRY PERICARP ONTOGENESIS FROM FERTILIZATION TO MATURITY OF *VITIS VINIFERA* L. var. MERLOT

Monique FOUGÈRE-RIFOT, H.-S. PARK et J. BOUARD

Institut de la Vigne de Bordeaux, Laboratoire des Sciences de la Vigne,
Université Bordeaux 1, Avenue des Facultés, 33405 Talence cedex (France)

Résumé : La transformation du gynécée de la fleur de vigne en baie est suivie de la fécondation à maturité. Les transformations cellulaires, en particulier celles des tanins vacuolaires et de l'amidon, ainsi que la régression des parois cellulaires sont spécialement étudiées.
Cette étude fait suite à celle sur l'ontogenèse du gynécée avant la fécondation (FOUGÈRE-RIFOT et *al.*, 1995) qui avait établi l'existence de 20 stades de développement depuis l'apparition d'un méristème initial du gynécée jusqu'à la formation du zygote. La présente étude permet de diviser en en 5 stades (stade 21 à stade 25) l'évolution du gynécée après la fécondation.

Abstract : Grape-flower ovary transformations is followed from fertilized flower to berry came to maturity. Cell transformations are studied, especially vacuolar tannins, starch and cell wall thinning :
- From fruit setting to veraison, cell number of carpellary wall located between outer epidermis and vascular bundles is multiplied by 2.
- Cell size increase considerably but by different means according to tissues : hypodermis cells elongate tangentially while inner parenchyma cells round.
- Vacuolar tannins content in internal parenchyma cells decrease as soon as ovary is fertilized. During growth and veraison tannic cell number decrease. At maturity, only the most external cells (superficial hypodermis) still have vacuolar tannins. All the other cells of ovary wall have no more tannins.
- Wall thickness decrease begins as soon as growth starts and this phenomena is continuous to maturity. The wall thinning down begins near the locules of ovary and is propagated towards the ouside of pericarp.
- Amyloplasts disappear progressively. At maturity, there is scarcely no more startch in grape-berry.
In short, except cells of berry skin, all the cells of ovary wall enlarge, lost their vacuolar tannins and the cell walls become very thin ; they are pulp cells.
In the pericarp of mature berry, hypodermis is very thin (less than 50 µm in places and 2-5 layers of cells). Pulp or flesh takes up a great place.
This work is consecutived to the one on ovary before fertilization (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1995) that shown 20 development stages from ovary primordia to the fertilized egg. From fertilized ovary to mature berry the development of pericarp is divided into 5 stages (stages 21 to 25) :
- Stage 21 : first appearance of ovary inflation. Ovary takes a round shape. The thickness of carpellary wall is about 300 µm.
- Stage 22 : fruit setting. Vacuolar tannins of inner parenchym disappear.
- Stage 23 : berry growth.
  - Stage 23A : transformation of inner parenchym into pulp.
  - Stage 23B : transformation of deep hypodermis into pulp
  - Stage 23C : pulp cell enlargement.
- Stage 24 : veraison. The definitive size of the berry is about reached.
  - Stage 24A : beginning of veraison. The hypodermis has still some thick walls.
  - Stage 24B : end of veraison. The hypodermis cells near the outer pulp cells change into pulp cells
- Stage 25 : maturity. Pulp is became very developped.

Mots clés : *Vitis vinifera*, baie, stades de développement, péricarpe, pulpe, transformations cellulaires, tanins vacuolaires, épaisseur des parois

Key words : *Vitis vinifera*, berry, development stages, ovary wall, pulp, cell transformations, vacuolar tannins, cell wall thickness

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

INTRODUCTION

Dès les très jeunes stades, le gynécée de *Vitis vinifera* L. var. Merlot est formé d'une paroi carpellaire enveloppant deux loges biovulées. A l'époque de la fécondation des ovules, cette paroi carpellaire est divisée en deux zones d'égale importance par un cercle de petits faisceaux conducteurs. Après la fécondation, le gynécée grandit énormément, devient une baie et sa paroi évolue en péricarpe, tandis que de très nombreuses transformations cellulaires se produisent. L'évolution plastidiale, de même que les teneurs en amidon et en chlorophylles ont déjà fait l'objet d'études récentes (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1995b ; PARK et DARNÉ, 1996). Le présent travail se propose de compléter les données déjà acquises, notamment en ce qui concerne le nombre et la taille des cellules, la nature et l'épaisseur de leurs parois, ainsi que la teneur en tanins vacuolaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Tous les échantillons ont été récoltés dans une même parcelle du domaine de Couhins (Domaine expérimental de l'INRA à Villenave d'Ornon, France).

Les méthodes d'étude, pour les observations en microscopie photonique et la technique de détection des polysaccharides, ont été décrites dans une précédente note (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1995a).

RÉSULTATS

I — LA PAROI CARPELLAIRE IMMÉDIATEMENT APRÈS LA FÉCONDATION DE L'OVAIRE

Dès que la fécondation ovulaire est réalisée, le gynécée gonfle, s'arrondit et le stigmate se dessèche. Le gynécée devient une jeune baie.

La paroi carpellaire est constituée de deux zones concentriques séparées par une trentaine de faisceaux vasculaires. Coupée transversalement, la paroi de la jeune baie présente, de l'extérieur vers l'intérieur, une assise épidermique, un hypoderme, une succession de petits faisceaux vasculaires disposés en cercle, puis un parenchyme interne et un épiderme interne ou épiderme des loges ovariennes (ou carpellaires) (figure 13). La paroi carpellaire se prolonge par la columelle qui sépare le centre de la baie en deux loges biovulées.

1) L'épiderme externe et l'hypoderme (figures 1 et 12)

Ces deux tissus sont constitués de cellules aux parois épaisses, souvent isodiamétriques, et très riches en tanins vacuolaires. Les cellules épidermiques ont des parois plus minces et sont un peu plus petites (14 à 16 µm) que les cellules de l'hypoderme qui est formé par 6 à 8 assises cellulaires.

Toutes les cellules épidermiques et la plupart de celles de l'hypoderme possèdent une très grande vacuole fortement chargée en tanins. Ces tanins sont très denses et le plus souvent sous forme d'une seule masse qui occupe tout le volume vacuolaire (PARK, 1995). Depuis le début de la formation du gynécée, il subsiste des massifs de cellules non tanniques, irrégulièrement répartis dans toute l'épaisseur de l'hypoderme. Ces massifs cellulaires non tanniques, qui peuvent être situés de la première assise sous-épidermique jusqu'au contact des faisceaux vasculaires, forment un réseau imbriqué dans celui formé par les cellules tanniques (BOUARD *et al.*, 1994 ; PARK *et al.*, 1995).

2) Les faisceaux conducteurs de la paroi carpellaire (figure 1)

Une trentaine de faisceaux, issus du système conducteur du pédoncule floral, constituent la vascularisation de la paroi carpellaire. Ces faisceaux situés à égale distance des épidermes, externe et interne, de la paroi sont petits (20-25 µm de diamètre), régulièrement répartis (100 à 150 µm les séparent), parfois anastomosés. Les trachéïdes sont bien différenciées.

3) Le parenchyme interne et l'épiderme des loges carpellaires (figure 1)

Le parenchyme interne, prolongé par celui de la columelle, est comme l'hypoderme composé de cellules de forme irrégulière, aux parois plus ou moins épaisses, toujours très vacuolisées et très souvent chargées de tanins.

Les tanins moins denses que ceux de l'hypoderme sont, le plus souvent, sous forme de fins granules régulièrement répartis dans tout le volume vacuolaire ; dans certaines cellules, les granules sont très nombreux et très fins, dans d'autres, peu nombreux mais plus gros, comme fusionnés. Les différents aspects pris par les tanins des baies de raisin ont été étudiés en détail par PARK (1995).

Les cellules de la dernière assise du parenchyme interne ont des vacuoles totalement dépourvues de tanins, mais qui contiennent une macle d'oxalate de calcium, de grande taille, en forme d'oursin (figure 1). Il faut souligner l'absence de macle d'oxalate dans les vacuoles de la dernière assise cellulaire du parenchyme columellaire qui borde l'épiderme des loges carpellaires.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

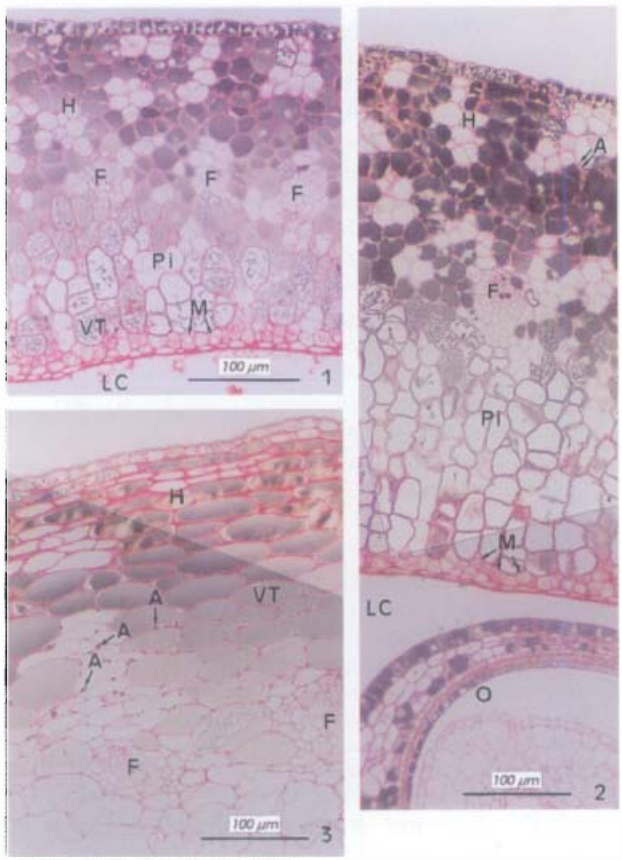


Fig. 1— Stade 21 : Début du gonflement de l'ovaire, immédiatement après la fécondation

Test PAS. Coupe transversale du gynécée. Les faisceaux conducteurs, régulièrement répartis sur un cercle, partagent la paroi carpellaire en deux zones circulaires et concentriques. Les tanins vacuolaires sont présents dans toute l'épaisseur de la paroi carpellaire.

Fig 1 — Stage 21 : First appearance of ovary inflation, just after fertilization as seen in cross section.

APS test. Vascular bundles are regularly standed in a circle. They divided carpellary wall in two circular and concentric belts. Vacuolar tannins are present in the whole thickness of carpellary wall.

Fig. 2 — Stade 22 : Nouaison

Test PAS. Coupe transversale dans une très jeune baie prélevée 4 jours après celle de la figure 1. Le nombre de cellules d'hypoderme et de parenchyme interne a augmenté. Des amyloplastes sont présents dans les cellules de l'hypoderme, essentiellement dans les cellules non tanniques, mais aussi dans quelques cellules tanniques.

Fig. 2 — Stage 22 : Fruit setting

APS test. Cross section in a very young berry cutted off four days after the one of figure 1. There is an increase of the number of internal hypoderm and internal parenchyma cells. Amyloplasts are present into hypodermal cells, especially into cells without tannins, but also into some tannic cells.

Fig. 3 — Stade 23 A : Croissance - transformation du parenchyme interne en pulpe

Test PAS. Coupe transversale dans le péricarpe d'une très jeune baie prélevée 5 semaines avant le début de la véraison.Les cellules du parenchyme interne sont devenues des cellules de pulpe. De l'amidon commence à s'accumuler, à l'extérieur des faisceaux conducteurs, dans les plastes des premières cellules de pulpe nées de la transformation de cellules de l'hypoderme profond et qui acquièrent des caractères de cellules de pulpe.

Fig.3 — Stage 23 A : Growth - transformation of internal parenchym into pulp

APS test. Cross section of a very young berry pericarp cutted off 5 weeks before the outset of veraison. Internal parechyma cells located outside the vascular bundle are become pulp cells. Some platids begin to accumulate starch. These platids are only located into the early pulp cells born off deep hypodermal cells. These cells improve with age, typical features of pulp cells.

Abréviations utilisées dans les figures

A : amyloplaste ; E : épiderme ; F : faisceau conducteur ; H : hypoderme ; Hpf : hypoderme profond ; LC : loge carpellaire ; M : macle d'oxalate de calcium ; N : noyau cellulaire ; O : ovule fécondé ; Pi : parenchyme interne ; Pl : plaste ; pm : plage de plasmodesmes ; PU : pulpe ; Pup : pulpe périphérique ; t : tonoplaste ; V : vacuole ; VT ; vacuole tannique

A : amyloplast ; E : epidermis ; F : vascular bundle ; H : hypodermis ; Hpf : deep hypodermis ; LC : carpellary locule ; M : calcium oxalate macle ; N : cell nucleus ; O : fertilized ovule ; Pi : internal parenchym ; Pl : plastid ; pm : plasmodesmata area ; PU : pulp ; Pup : peripherical pulp ; t : tonoplast ; V : vacuole ; VT ; tannic vacuole

*** Dans l'ensemble des clichés présentés, il ne faut pas tenir compte du diamètre des faisceaux conducteurs. En effet, les faisceaux sont agencés en réseau et leur section varie énormément selon l'incidence du plan de coupe présenté.*

L'épiderme des loges carpellaires est formé de cellules aplaties, sans tanins et à parois épaisses, très riches en polysaccharides.

II —LES TRANSFORMATIONS CELLULAIRES DES DIFFÉRENTS TISSUS DE LA NOUAISON À LA MATURITÉ

1) Les multiplications cellulaires

De la nouaison à la véraison, soit pendant les six ou sept semaines de la phase de croissance, le nombre des cellules des tissus périphériques situés entre l'épiderme externe et les faisceaux conducteurs augmente. Compté suivant un rayon, ce nombre passe de 7 à 9 après la nouaison à 14 à 18 au début de la véraison ; par la suite, le nombre de cellules reste constant (figure 13). On peut admettre que chacune des cellules de la paroi carpellaire, située à l'extérieur des faisceaux, ne se divise qu'une fois et que cette division est plus ou moins précoce. Selon COOMBE (1976), le nombre des cellules augmente d'un facteur deux, et cela ne contribue que pour une très faible part à l'accroissement de la taille des baies.

Les noyaux, plaqués contre le plasmalemme dans des cellules très vacuolisées, sont petits et difficiles à distinguer dans les cellules les plus fortement chargées en tanins. Nous ignorons si les cellules tanniques sont aptes à se diviser ou, si plus vraisemblablement, les mitoses ne sont à rechercher que dans des cellules dépourvues de tanins ; dans ce cas, soit ces cellules constituent une lignée sans tanins seule capable de se diviser, soit elles subissent une dédifférenciation prémitotique. Il est à remarquer que toutes les cellules de la paroi carpellaire sont très vacuolisées (vacuoles

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

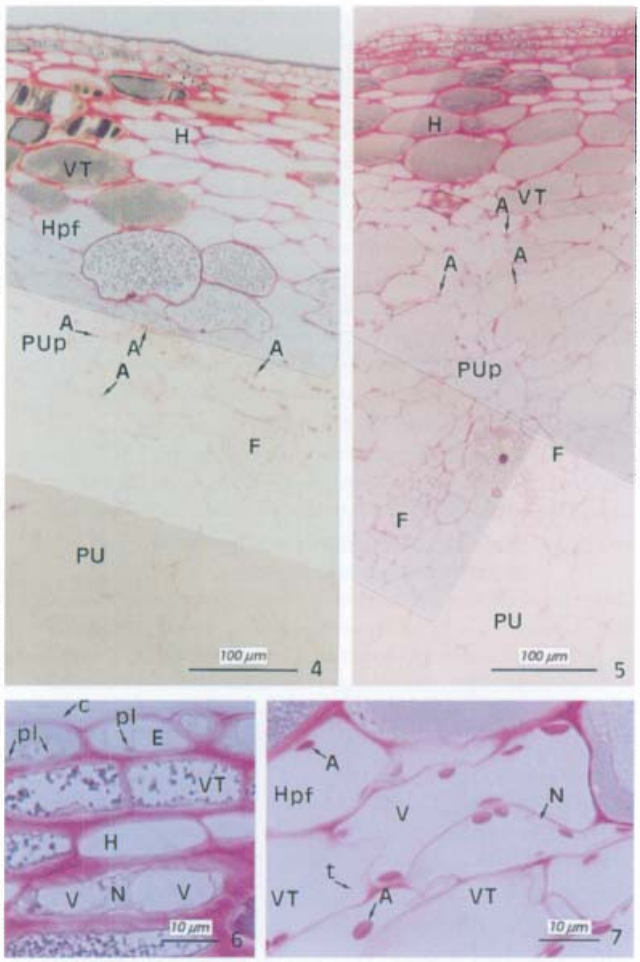


Fig. 4 — Stade 23 B : Croissance - transformation de l'hypoderme profond en pulpe

Test PAS. Coupe transversale dans le péricarpe d'une jeune baie prélevée 4 semaines avant le début de la véraison. A l'extérieur des faisceaux conducteurs, plusieurs assises cellulaires ont perdu leurs caractères de cellules d'hypoderme et acquièrent ceux de pulpe (plus de tanins vacuolaires, parois fines…) mais accumulent temporairement de l'amidon.

Fig. 4 — Stage 23 B : Growth - transformation of deep hypodermis into pulp

APS test. Cross section of a young berry pericarp cutted off 4 weeks before the outset of veraison. Outside the vascular bundles, a number of cellular layers have lost their hypodermal features but they have now pulp features (missing vacuolar tannins, thin valls...) but they accumulate starch during a short time.

Fig. 5 — Stade 23 C : Croissance - grandissement des cellules de pulpe

Test PAS. Coupe transversale d'une jeune baie prélevée 2 semaines avant le début de la véraison. Toutes les cellules grandissent. Les assises cellulaires les plus externes s'étirent tangentiellement et s'aplatissent. L'amidon est présent dans les cellules de la pulpe périphérique.

Fig. 5 — Stage 23 C : Growth - pulp cells increasing

APS test. Cross section of a young berry pericarp cutted off 2 weeks the outset of veraison. All the cells are increasing. Outermost cells elongate tangential and they become flat. Starch is present in peripheral pulp cells.

Fig. 6 — Stade 23 C : Croissance - grandissement des cellules de pulpe

Test PAS. Coupe transversale au niveau de la pellicule. L'épiderme et l'hypoderme sont dépourvus d'amyloplastes. L'épiderme a perdu, pendant la croissance, les tanins vacuolaires très abondants aux stades 21 et 22. Les cellules d'hypoderme ont des parois très épaisses et selon les cellules, les vacuoles sont tanniques ou non tanniques.

Fig. 6 — Stage 23 C : Growth - pulp cells increasing

APS test. Cross section of berry skin. Epidermis and hypodermis are devoid of amyloplats. During the growth, epidermis has lost vacuolar tannins that was very abundant at stages 21 and 22. Hypodermal cells have very thick walls, and vacuolar cells are tannic or without tannins.

Fig. 7 - Stade 23 C : Croissance - grandissement des cellules de pulpe

Test PAS. Coupe transversale au niveau de la zone de transition entre l'hypoderme et la pulpe périphérique. Les amyloplastes sont nombreux. Les parois tangentielles s'amenuisent au fur et à mesure que les cellules se transforment en cellules de pulpe.

Fig. 7 — Stage 23 C : Growth - pulp cells increasing

APS test. Transition level between hypodermis and peripheral pulp as seen in cross section. Amyloplasts are numerous. Thickness of tangential walls decrease as and when cells are changed into pulp cells.

tanniques ou non tanniques) et que la jeune baie ne contient pas de cellules ayant des caractères juvéniles (figure 1 à 10).

2) L'accroissement de taille des cellules

De la fécondation à la maturité, les cellules de la paroi carpellaire grandissent. Dans les couches externes aux faisceaux, les cellules sont à peu près isodiamétriques dans les stades jeunes, et, avec le temps, elles tendent à s'étirer tangentiellement (figures 6, 12). La longueur des cellules passe de 13-16 µm au moment de la nouaison à environ 100-180 µm à la maturité. Selon COOMBE (1976) le volume cellulaire serait multiplié par 300 ou plus entre l'anthèse et la maturité. La première étape d'augmentation importante se situe pendant la phase de croissance : les dimensions linéaires de ces cellules triplent. Par la suite, elles poursuivent leur élargissement et leur taille double entre la véraison et la maturité par gonflement vacuolaire. COOMBE (1973) note une reprise de l'expansion cellulaire au stade véraison.

Les cellules de l'hypoderme et celles du parenchyme interne subissent un accroissement du même ordre de grandeur, mais ces cellules n'évoluent pas de façon identique : celles de l'hypoderme ont tendance à s'aplatir tangentiellement tandis que celles du parenchyme interne s'arrondissent et deviennent des cellules de pulpe (figure 12).

La croissance cellulaire apparaît également en comparant l'épaisseur des tissus situés à l'extérieur des faisceaux ; ainsi, pour un nombre de cellules qui reste constant (14 à 18), l'épaisseur entre l'épiderme externe et les faisceaux passe d'environ 200 µm pendant la deuxième phase de croissance à 700 à l'époque de la maturité, soit un agrandissement linéaire des cellules de 3,5 (figure 13). Cependant, la croissance de la baie étant pratiquement terminée avant la véraison, il faut admettre que, dans les couches les plus profondes de la pulpe, un certain nombre de cellules doivent être laminées.

3) La perte des tanins vacuolaires

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

Les tissus du gynécée possèdent des vacuoles chargées de tanins. Durant toute l'évolution du gynécée, de la nouaison à la baie mûre, les cellules de cet organe perdent progressivement leurs tanins (BOUARD *et al.*, 1994).

La baisse de la charge tannique débute quelques jours après la fécondation dans les cellules de l'épiderme et de l'hypoderme ; les masses tanniques diminuent et sont souvent creusées de cavités ; elles donnent l'impression d'être constituées de granules agglutinés.



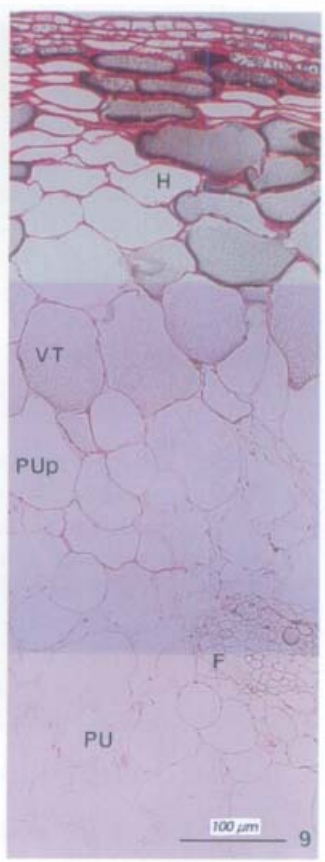


Fig. 8 — Stade 24 A : Début de la véraison
Test PAS. Coupe transversale dans le péricarpe externe d'une baie. L'hypoderme continue de régresser et les cellules de grandir. L'amidon a pratiquement disparu de la pulpe périphérique qui devient ainsi tout à fait comparable à la pulpe la première formée, plus profonde, située sous les faisceaux vasculaires.

Fig. 8 - Stage 24 A : Outset of the veraison
APS test. Cross section of berry external pericarp. Hypoderm tissue continue to decrease and cells continue to increase. Starch is missing from peripheral pulp and that was how this pulp became like the firstborn pulp which is deeper and located under vascular bundles.

Fig. 9 — Stade 24 B : Fin de la véraison
Test PAS. Coupe dans le péricarpe externe d'une baie. Les cellules les plus périphériques poursuivent leur aplatissement. Les tanins régressent encore ; les granules de tanins deviennent de plus en plus fins.

Fig. 9 — Stage 24 B : End of the veraison
APS test. Cross section of berry external pericarp. The most peripheral cells continue to become flat. Tannins still decrease. Tannin granules become thinner and thinner

Dans le parenchyme interne, la perte des tanins est plus importante : la quasi-totalité des tanins disparaît en quelques jours des couches cellulaires les plus profondes à proximité des loges carpellaires ainsi que des cellules de la columelle ; les tanins qui subsistent sont sous forme de granules le plus souvent plaqués contre le tonoplaste. Près des faisceaux conducteurs de la paroi et près de ceux de la columelle, les pertes tanniques sont moins accusées.

Durant la croissance (figures 3, 4, 5), puis pendant la véraison (figures 8, 9), l'appauvrissement total en tanins se poursuit et le nombre de cellules tanniques diminue (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1996a). Arrivées à maturité (figure 10), seules les cellules de l'hypoderme superficiel renferment encore des tanins sous forme de granules, parfois très fins, souvent très gros, dispersés dans tout le volume vacuolaire.

4) La régression des parois

La régression pariétale est un phénomène qui débute dès la phase de croissance de la baie et se poursuit jusqu'à la maturité. Elle concerne, dans un premier temps, les cellules les plus profondes de la paroi carpellaire, c'est-à-dire celles situées à l'intérieur du cercle des faisceaux vasculaires, puis elle gagne de proche en proche et atteint les cellules de l'hypoderme profond. Ce processus entraîne une diminution progressive de l'épaisseur de la strate hypodermique.

Au niveau du parenchyme interne, la régression de l'épaisseur des parois se produit dès le début de la croissance (figure 3) ; déjà très appauvries, voire dépourvues de leurs tanins vacuolaires, les cellules de ce tissu ont des parois qui s'amenuisent progressivement. Ainsi, les cellules se « métamorphosent » et deviennent, en fin de croissance, des cellules de pulpe (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1995a).

L'hypoderme profond est également en mutation et, à la fin de la croissance, le terme d'hypoderme ne convient plus. En effet, les cellules aux parois épaisses sont devenues des cellules aux parois très minces. Ces cellules ayant aussi perdu leurs tanins, elles deviennent elles aussi des cellules de pulpe (pulpe périphérique) (figure 13).

La régression des parois est un processus lent qui continue à progresser de l'intérieur vers l'extérieur de la baie pendant la véraison et la maturation. Les parois deviennent de plus en plus minces mais gardent une partie de leurs polysaccharides, notamment au niveau des lamelles moyennes et aux angles des cellules (figure 11). En fait, après la transformation du parenchyme interne en pulpe, la zone de régression se situe toujours à la limite interne de l'hypoderme et remonte

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

en direction de l'extérieur de la baie. L'amincissement pariétal se fait en deux temps (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1996b) : 1 - perte des polysaccharides réagissant au PAS (rappelons que la cellulose réagit très faiblement, ROLAND, 1974) ; 2 - diminution de l'épaisseur de la paroi. Les parois finissent par être très fines et perdent leur rigidité. Les cellules tanniques et, également, les non tanniques sont concernées par cette transformation. De très nombreuses cellules d'hypoderme deviennent ainsi des cellules de pulpe périphérique.

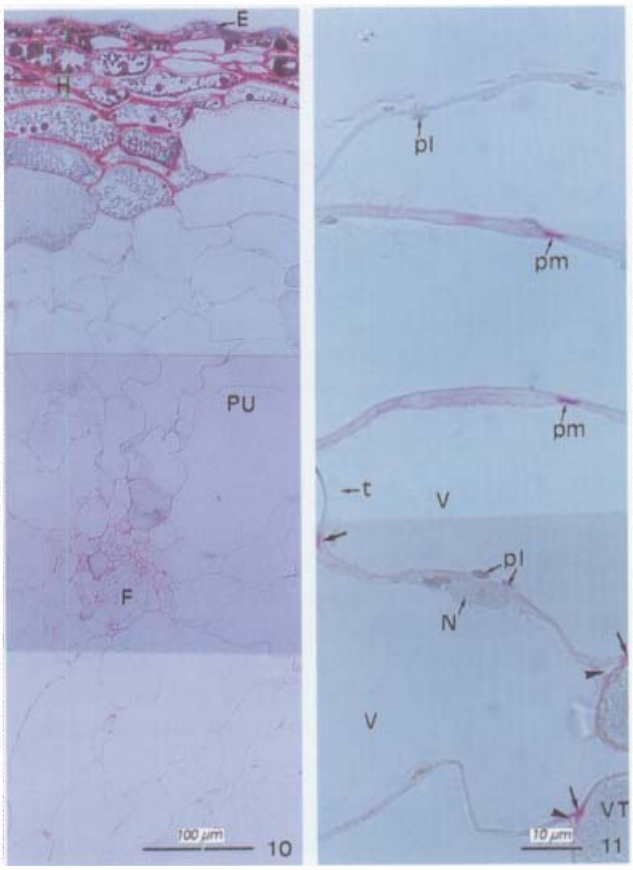


Fig. 10 — Stade 25 : maturité

Test PAS. Coupe transversale dans le péricarpe externe d'une baie parvenue à maturité. L'hypoderme est réduit. Les tanins vacuolaires sont cantonnés dans la pellicule (épiderme + hypoderme).
Remarquer l'épaisseur et la réactivité des polysaccharides des parois cellulaires dans la zone de transition hypoderme- pulpe (en limite interne de l'hypoderme).

Fig. 10 — Stage 25 : Maturity

APS test. External pericarp of mature berry in cross section. Hypodermis is small. Vacuolar tannins are only located inside berry skin (epidermis + hypodermis). Notice the thickness of the cell walls in the transition level between hypodermis and pulp. Notice polysaccharide reactivity of these cell walls.

Fig. 11 — Stade 25 : maturité

Test PAS. Détail de la Fig. 10. La coupe passe au niveau d'une plage de cellules sans tanins de l'hypoderme proche de la pulpe.
Les plastes sont pratiquement dépourvus d'amidon. Les cellules sont largement vacuolisées et vivantes. Les parois ne possèdent presque plus de polysaccharides PAS positifs, sauf au niveau des angles des cellules (flèches). Il se forme quelques petits méats (têtes de flèches).

Fig. 11 — Stage 25 : Maturity

APS test. Detailed area of figure 10. This area takes place in hypodermis without tannin cells near the pulp. Plastids are devoid of starch.
Cells have large vacuoles and are alive. Cell walls are almost devoid of positive APS polysaccharides, except at the corners of the cells (arrows).
Sometimes, there are small intercellular spaces (arrowheads).

5) Les variations de la teneur en amidon et la localisation des amyloplastes dans le gynécée

Durant la croissance, les amyloplastes sont strictement localisés dans les cellules de la pulpe périphérique (pulpe la plus externe issue de la transformation des cellules de l'hypoderme profond) (figures 3, 4, 5, 7). L'amidon a disparu de l'hypoderme pendant le début de la croissance ; la pulpe profonde, c'est-à-dire la pulpe interne par rapport aux faisceaux conducteurs, en est totalement dépourvue lorsque la maturité de la baie est atteinte (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1995b). La teneur en amidon ne cesse de diminuer depuis la deuxième phase de la croissance jusqu'à la maturité (CHERRAD et PARK, 1996).

III — LA PAROI CARPELLAIRE DE LA BAIE À MATURITÉ (figures 10, 11)

Dans la paroi carpellaire, les cellules subissent encore un certain nombre de transformations. A l'exception des cellules de la pellicule, l'ensemble des cellules de la paroi carpellaire achèvent leur croissance, finissent de perdre les quelques tanins vacuolaires et polysaccharides pariétaux qui subsistent ; ces cellules sont devenues des cellules de pulpe très largement vacuolisées, sans tanins et à paroi cellulaire très mince, distendue (PARK, 1995) (figure 10).

1) L'épiderme externe et l'hypoderme

L'épiderme et l'hypoderme sous-jacent constituent classiquement la pellicule, mais, il ne faut pas oublier que lorsqu'on arrache la pellicule, on enlève aussi, toujours, quelques cellules de pulpe.

Les cellules épidermiques sont typiques, aplaties tangentiellement, irrégulières, fréquemment sénescentes, et le plus souvent pourvues de vacuoles tanniques (figure 10). Les tanins sont sous forme de grandes masses alvéolées.

Durant la maturation et éventuellement la surmaturation, l'épaisseur de l'hypoderme continue de diminuer et atteint par endroits moins de 50 µm. La diminution est due à la conjonction de deux facteurs : un aplatissement tangentiel très marqué des cellules aussi bien tanniques que non tanniques (certaines sont laminées) et une diminution continue (cf. B 4.) du nombre d'assises cellulaires aux caractères d'hypoderme (2 à 6 assises selon les endroits).

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

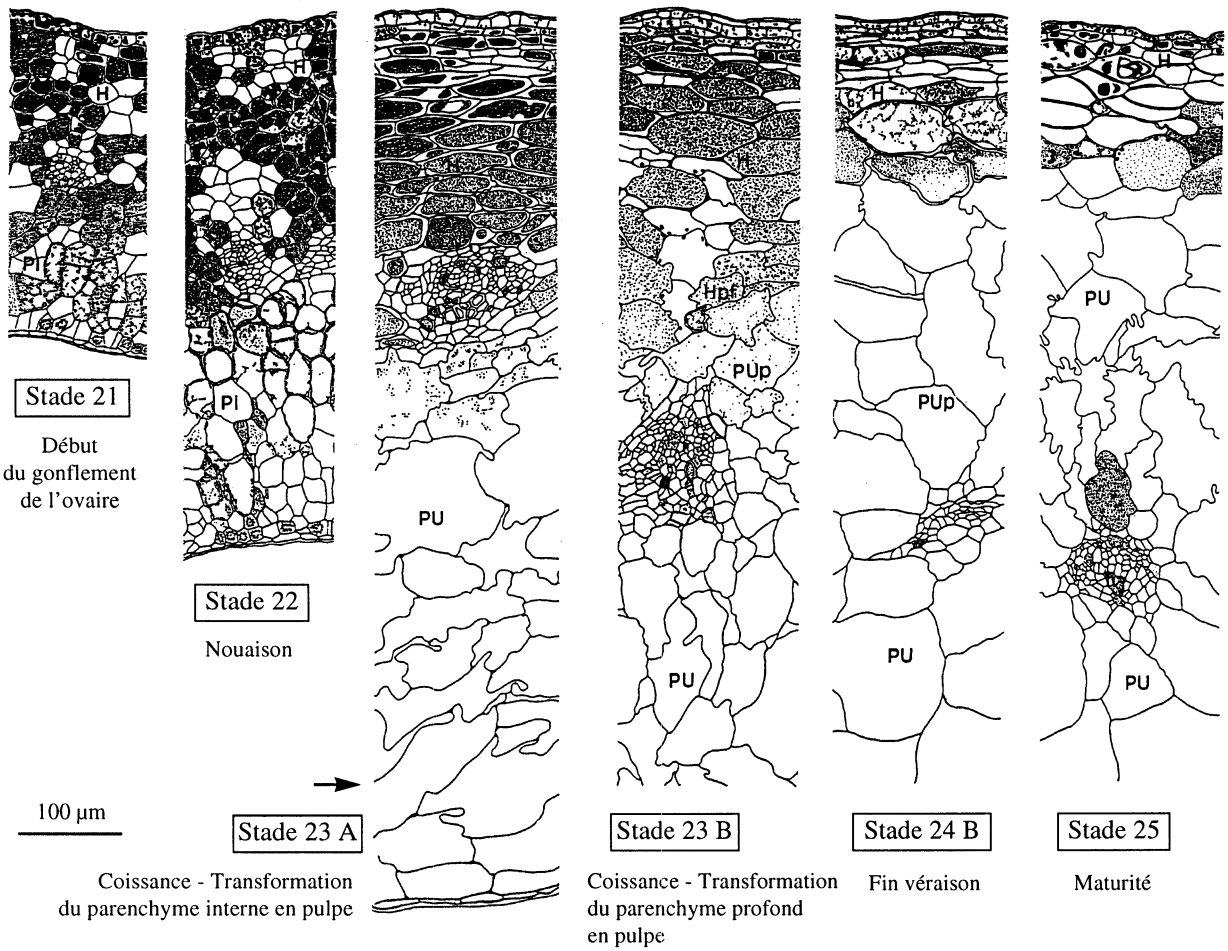


Fig. 12 — Coupes au niveau de la paroi carpellaire montrant l'évolution de l'ovaire fécondé en début de gonflement (stade 21) jusqu'à la baie mûre (stade 25)

Stade 21 : début du gonflement de l'ovaire ; Stade 22 : nouaison apparente ; Stage 23A : croissance - transformation du parenchyme interne en pulpe ; Stage 23B : croissance - transformation de l'hypoderme profond en pulpe ; Stade 24B : fin véraison ; Stage 25 : maturité

Fig. 12 — Cross sections of carpellar wall showing fertilized ovary development from the first appearence of ovary inflation (stage 21) to mature berry (stage 25)

Stage 21 : first appearence of ovary inflation ; Stage 22 : apparent fruit setting ; Stage 23A : growth - transformation of internal parenchym into pulp Stage 23B : growth - transformation of deep hypodermis into pulp - Stage 24B : end of the veraison - Stage 25 : maturity

Les cellules de l'hypoderme ont des parois tangentielles particulièrement épaisses (3 µm environ), ce qui constitue une réserve de polysaccharides temporairement immobilisés. Des plages de plasmodesmes subsistent entre les cellules (figure 11).

La teneur en tanins vacuolaires diminue constamment (cf. B 3.). Les réseaux imbriqués de cellules tanniques et de cellules non tanniques persistent (figure 10). Les tanins se présentent sous forme de masses denses plus ou moins importantes, plus ou moins lobées et, selon les cellules, associées ou non à des très fins granules présents dans la même vacuole. L'origine des tanins vacuolaires à partir du réticulum endoplasmique est suggérée par des études en microscopie électronique (PARK, 1995 ; PARK *et al.*, 1995). De nouvelles études sont en cours.

2) Les faisceaux conducteurs et la pulpe

Les faisceaux vasculaires sont éloignés de l'épiderme par le grandissement cellulaire qui se produit encore et se trouvent repoussés à 700 ou 900 µm de la surface épidermique. De ce fait, la région la plus périphérique de la baie n'est plus vascularisée, et les faisceaux ne marquent plus la limite de la pellicule (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1995a) (figure 10).

La pulpe est très importante. Ses cellules sont très grandes (parfois plus de 200 µm), non tanniques et à parois cellulaires très minces. Très largement vacuolisées, elles constituent une importante réserve aqueuse propice à l'accumulation de glucides solubles.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

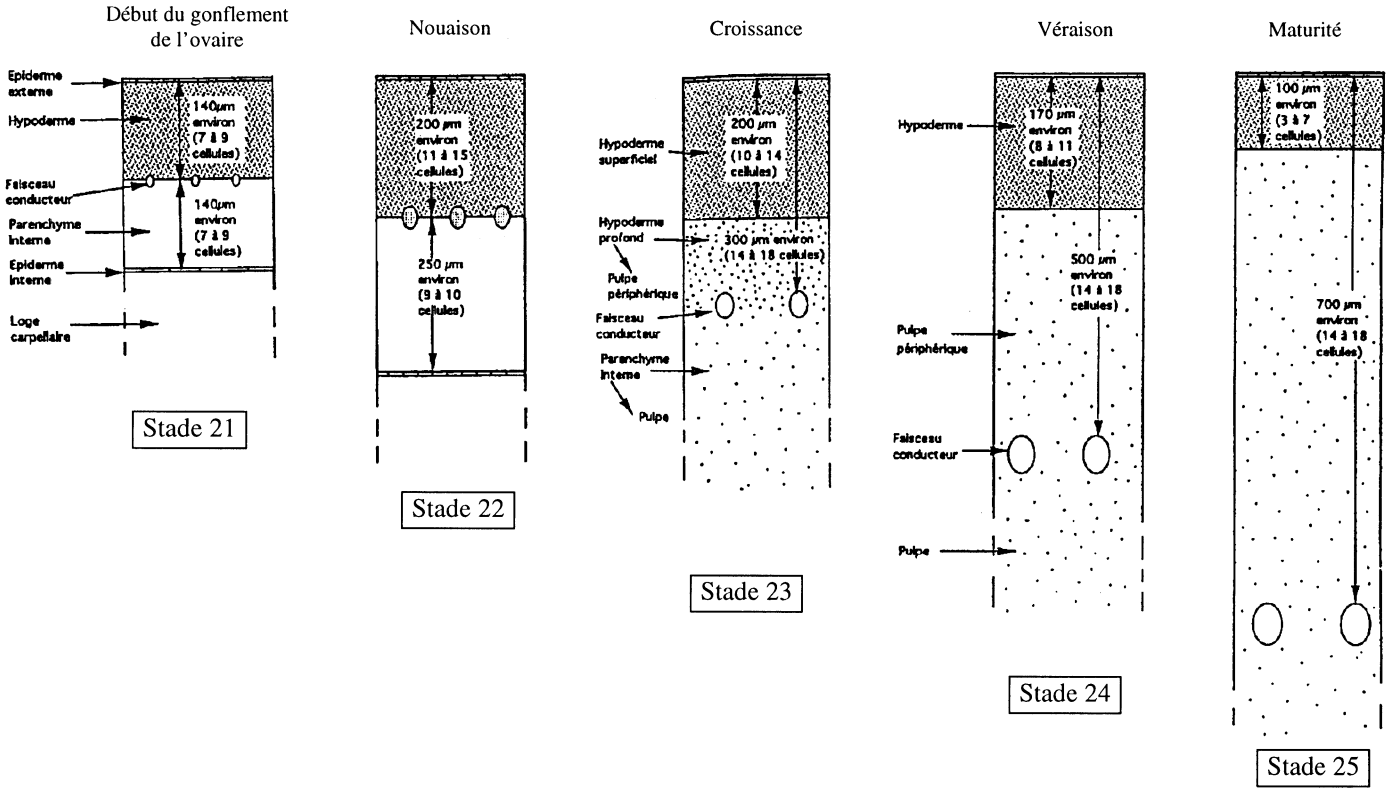


Fig. 13 — Position des faisceaux conducteurs et importance relative des différents tissus de la baie de raisin pendant son développement

- Les cellules de la pulpe se forment par transformation des cellules du parenchyme interne.
- Les cellules de la pulpe périphérique résultent de la métamorphose des cellules de l'hypoderme profond.
- Le nombre de cellules situées entre l'épiderme externe et les faisceaux conducteurs augmente uniquement pendant la phase de croissance, chez le Merlot.
- Les faisceaux conducteurs situés, au stade nouaison, au milieu de la paroi carpellaire, à la limite de l'hypoderme et du parenchyme interne finissent par marquer la limite inférieure de la pulpe périphérique lorsque la baie est mûre. Ils ne marquent donc plus, au stade maturité, la limite de la pellicule (épiderme externe + hypoderme) et de la pulpe

Fig. 13 — Localization of vascuolar bundles and relative positions of different tissues in vine berry during its development

- Pulp cells develop by transformation of internal parenchym cells
- Peripherical pulp cells result in deep hypodermis cell transformations.
- Cell number located between external epidermis and vascular bundles of *Vitis vinifera* var. Merlot only increase during growth stage.
- Vascular bundles located in the middle of carpellary wall exactly at the boundary between hypodermis and internal parenchym, when fruit is setting, arrived to point the lower part of peripherical pulp when berry reachs maturity. At maturity, they don't point the boundary between berry skin (epidermis + hypodermis) and pulp.

IV — LES CINQ STADES DU DÉVELOPPEMENT DE LA BAIE DE RAISIN

L'étude que nous avons faite ici précise les caractères cytologiques des stades du développement de la baie et nous amène à considérer à part le début du gonflement de l'ovaire. Ces stades sont numérotés de 21 à 25, car ils font suite à ceux que nous avions établis quant à la chronologie du gynécée depuis l'apparition du méristème initial de la fleur (stade 1) jusqu'à la formation du zygote (stade 20) (FOUGÈRE-RIFOT *et al.*, 1995c).

• **Stade 21 :** début du gonflement de l'ovaire (figures 1, 12 et 13).

Ce stade suit immédiatement la fécondation des ovules. L'ovaire s'arrondit, et le stigmate change de couleur ; il passe du jaune au marron. L'ovaire renferme théoriquement 4 ovules fécondés ; en fait, 1 ou 2 seulement vont se développer.

La paroi carpellaire est encore mince (environ 300 µm) et très riche en tanins vacuolaires. Les faisceaux conducteurs marquent la limite entre l'hypoderme et le parenchyme interne.

• **Stade 22 :** nouaison (figures 2, 12 et 13).

L'ovaire est devenu une petite baie sphérique, bien accrochée à son pédicelle.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

La paroi carpellaire a perdu une grande partie des tanins vacuolaires des cellules du parenchyme interne et les faisceaux conducteurs marquent encore la limite entre l'hypoderme et le parenchyme interne.

• **Stade 23 :** croissance de la baie (figures 3, 4, 5, 12 et 13).

La croissance s'étendant sur plusieurs semaines, nous sommes amenés à diviser, arbitrairement, ce stade en plusieurs étapes :

- Stade 23 A : transformation du parenchyme interne en pulpe (figure 3).

Les transformations cellulaires conduisent à la formation d'une pulpe par évolution des cellules du parenchyme interne. Les faisceaux conducteurs marquent toujours la limite entre l'hypoderme et la pulpe.

- Stade 23 B : transformation de l'hypoderme profond en pulpe (figure 4).

La pulpe devient de plus en plus importante ; une partie de l'hypoderme (hypoderme profond) se transforme en pulpe (pulpe périphérique). Les faisceaux conducteurs se trouvent alors situés dans la pulpe.

- Stade 23 C : grandissement des cellules de la pulpe (figure 5).

La pulpe périphérique prend de plus en plus d'importance au détriment de l'hypoderme profond. Les mitoses sont terminées. Les cellules de la pulpe grandissent.

• **Stade 24 :** véraison (figure 8, 9, 12, 13).

La baie de Merlot a quasiment atteint sa taille définitive. Les cellules de l'hypoderme continuent de perdre des tanins vacuolaires. L'épaisseur de la couche hypodermique diminue.

- Stade 24 A : début de la véraison (figure 8).

Les parois cellulaires de l'hypoderme sont épaisses.

- Stade 24 B : fin de la véraison (figure 9, 12).

Les cellules de l'hypoderme les plus proches de la pulpe périphérique sont de plus en plus fines et deviennent comparables à celles de la pulpe.

• **Stade 25 :** maturité (figure 10, 11).

La baie peut atteindre un diamètre de 15 ou 16 mm. L'hypoderme n'est plus constitué que par quelques assises cellulaires. Ses cellules conservent des parois épaisses et la plupart ont une grande et unique vacuole à tanins. Certaines demeurent non tanniques (figure 11).

CONCLUSION

La transformation de la paroi carpellaire du gynécée de la fleur de Vigne en péricarpe de la baie ne se résume pas à un simple grandissement. Le grandissement est accompagné de remaniements cellulaires dont les plus apparents sont la diminution des teneurs en tanins vacuolaires, en amidon et en chlorophylles, ainsi que la régression de l'épaisseur pariétale et l'augmentation de la charge hydrique des cellules de la pulpe.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BOUARD J., FOUGÈRE-RIFOT M., BENHARBIT EL ALAMI N. et H.-S. PARK, 1994. Sur quelques anomalies de la structure des ovules et des ovaires des fleurs de vigne en relation avec la coulure et le millerandage. *VI^e Congrès latino-américain de Viticulture et d'Œnologie*, Santiago du Chili, 250-257.

CHERRAD M. et H.-S. PARK, 1996. L'amidon dans les boutons floraux, les fleurs et les baies de Cabernet-Sauvignon et de Merlot au cours du développement de la grappe. J. intern. Sc. Vigne Vin, n° hors-série : *La viticulture à l'aube du III^e millénaire*, 59-63.

COOMBE B.G., 1973. The regulation of set and development in the grape berry. *Acta Hortic.*, **34**, 261-273.

COOMBE B. G., 1976. The development of fleshy fruits. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **27**, 207-228.

FOUGÈRE-RIFOT M., PARK H.-S. et J. BOUARD, 1995a. Données nouvelles sur l'hypoderme et la pulpe des baies normales et des baies millerandées d'une variété de *Vitis vinifera* L., le Merlot noir. *Vitis*, **34**, n°1, 1-7.

FOUGÈRE-RIFOT M., PARK H.-S., CHERRAD M., DARNÉ G. et J. BOUARD, 1995b. Plastes, amidon et chlorophylle dans la baie de *Vitis vinifera* L. au cours de son développement. *J. intern. Sc. Vigne Vin*, **29**, n°4, 213-225.

FOUGÈRE-RIFOT M., BENHARBIT EL ALAMI N., BRUN O. et J. BOUARD, 1995c. Ontogenèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var. Chardonnay en relation avec l'apparition de vacuoles tanniques. *J. intern. Sc. Vigne Vin*, **29**, n°3, 105-130.

FOUGÈRE-RIFOT M., PARK H.-S., BENHARBIT EL ALAMI N. et J. BOUARD, 1996a. Anomalies de la structure des fleurs de vigne et des baies de raisin en relation avec la coulure et le millerandage. J. intern. Sc. Vigne Vin, n° hors-série : *La Viticulture à l'aube du III^e millénaire*, 47-52.

FOUGÈRE-RIFOT M., CHOLET C. et J. BOUARD, 1996b. Evolution des parois des cellules de l'hypoderme de la baie de raisin lors de leur transformation en cellules de pulpe. *J. intern. Sc. Vigne Vin*, **30**, n°2, 47-51.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

PARK H.-S., 1995. Le péricarpe des baies de raisin normales et millerandées : ontogenèse de la structure et évolution de quelques constituants biochimiques notamment des tanins. *Thèse*, Université Bordeaux 1, 209 p.

PARK H.-S. et G. DARNÉ G., 1996. Evolution des teneurs en pigments chorophylliens des baies de *Vitis vinifera* L. au cours de leur développement. J. intern. Sc. Vigne Vin, n° hors-série : *La Viticulture à l'aube du IIIe millénaire*. 75-77.

PARK H.-S., FOUGÈRE-RIFOT M. et J. BOUARD, 1995. Les tanins vacuolaires de la baie de *Vitis vinifera* L var. Merlot à maturité. Œnologie 95. *Ve Symp. intern. d'Œnologie*, Actualités œnologiques 95, Bordeaux, Lavoisier Tec Doc éd., 115-118.

ROLAND J.-C., 1974. Cytochimie des polysaccharides végétaux : détection et extraction sélectives. *J. Microsc.*, **21**, n°3, 233-244.

Manuscrit reçu le 30 juillet 1997 ;
Accepté pour publication le 8 septembre 1997.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)