Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1995, **29**, N°3, 105-130

ONTOGENÈSE DU GYNÉCÉE DE *VITIS VINIFERA* L. var. CHARDONNAY EN RELATION AVEC L'APPARITION DE VACUOLES TANNIQUES

GYNAECIUM ONTOGENESIS OF *VITIS VINIFERA* L. var. CHARDONNAY IN CLOSED CONNECTION WITH THE APPARITION OF TANNIC VACUOLES

Monique FOUGÈRE-RIFOT*, Naïma BENHARBIT EL ALAMI*, O. BRUN** 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)
**Mumm-Vignobles et Recherches, 11 avenue de Champagne, B.P. 186, 51206 Epernay Cedex (France)

Résumé : L'ontogenèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var. Chardonnay est suivie, étape par étape, et divisée en vingt stades, depuis le méristème initial au sommet du pédoncule floral jusqu'à la nouaison. Chaque stade est étudié du point de vue morphologique et cytologique. Les particularités du gamétophyte femelle sont analysées. Au niveau de l'ovaire, l'origine particulière de la columelle, le trajet des tubes polliniques dans le style et la columelle et leur arrivée dans les loges carpellaires sont suivis. La présence de vacuoles à tanins dans les différents tissus du gynécée et plus spécialement de l'ovule est signalée et mise en relation étroite avec la vitalité des ovules, puis avec l'évolution normale des ovules en pépins ou avec une dégénérescence plus ou moins précoce. Toute l'ontogenèse est résumée dans un tableau chronologique.

Abstrac : Gynaecium ontogenesis of *Vitis vinifera* L. var. Chardonnay is followed up stage by stage. It is divided into twenty stages from initial meristem at the top of pedicel till just after the fruit is set. Each stage is morphologically and cytologically investigated. Special features of the female gametophyte are made conspicuous. In the ovary, the origin of fruit septum, the pathway of pollen tubes in the style and in the septum are revealed. A close connection between the presence of vacuolar tannins in gynaecium and especially in ovule and the ovule vitality is reported. The absence of vacuolar tannins is a symptom of illness and premature breakdown of the ovules before their transformation into pips. The whole ontogenesis is summed up in a very full table.

Mots clefs : *Vitis vinifera*, développement de l'ovaire, développement de l'ovule, sac embryonnaire, columelle, tanins, tubes polliniques, canal stylaire, tissu de conduction

Key words : *Vitis vinifera*, pistil development, ovule development, embryo sac, septum, tannins, pollen tubes, stylar canal, stylar transmitting tissue

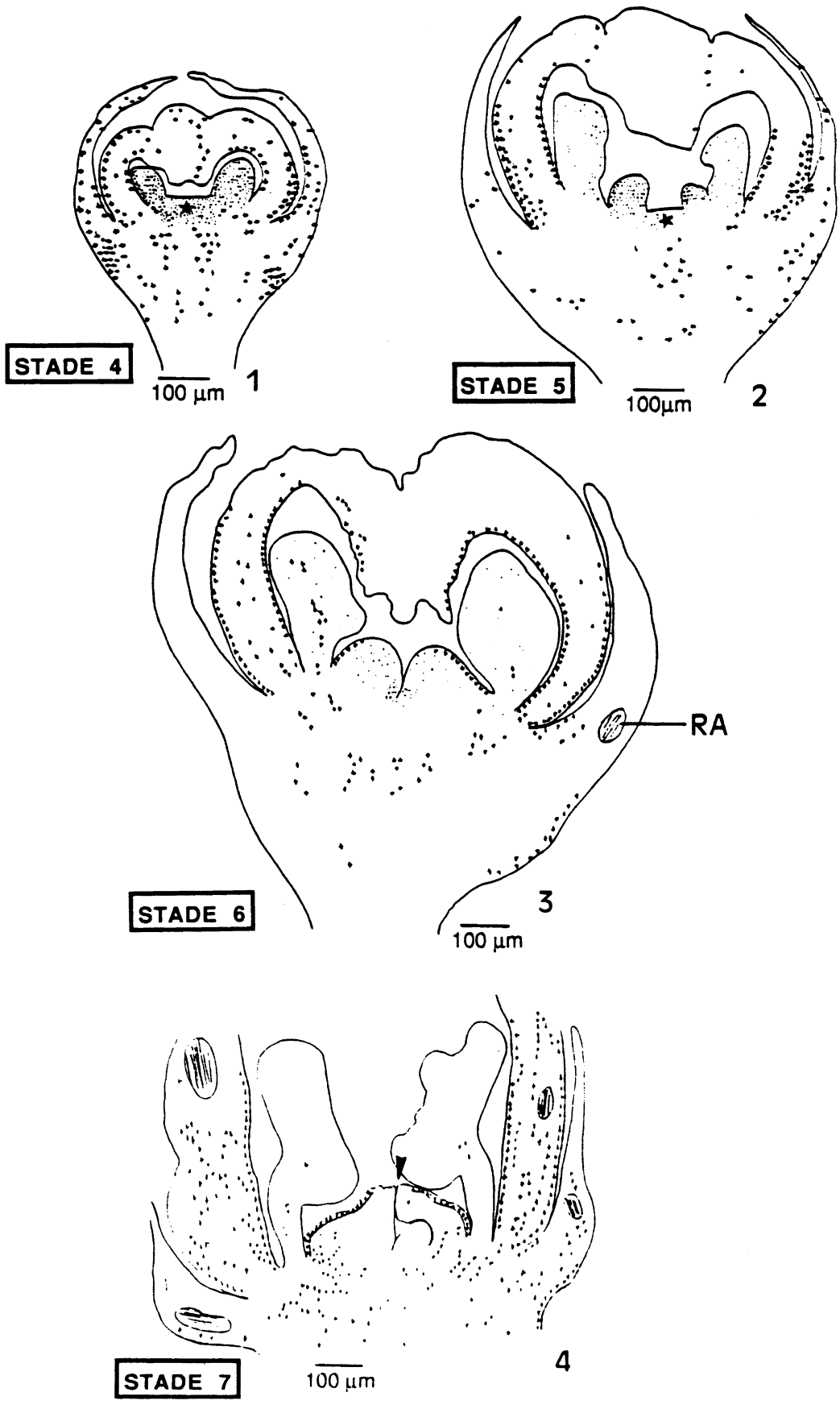
L'ontogenèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var. Chardonnay a été suivie durant un mois et demi (fin avril - mi-juin), c'est-à-dire depuis l'apparition des inflorescences sur les rameaux jusqu'à la formation de très jeunes baies juste nouées.

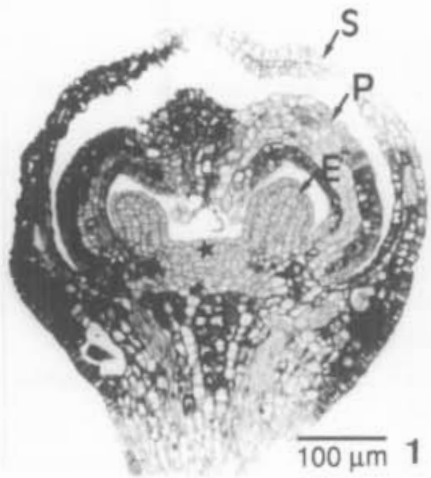
La présence ou l'absence de tanins dans les vacuoles de certains tissus du gynécée de vigne a été soigneusement notée, car la synthèse et l'accumulation de ces tanins en des sites très précis de l'ovaire ou de l'ovule sont un indice du bon déroulement du développement du gynécée. A l'inverse, leur absence ou leur catabolisme sont des symptômes d'une perturbation de l'ontogenèse. (FOUGÈRE-RIFOT et *al.*, 1993a, 1993b)

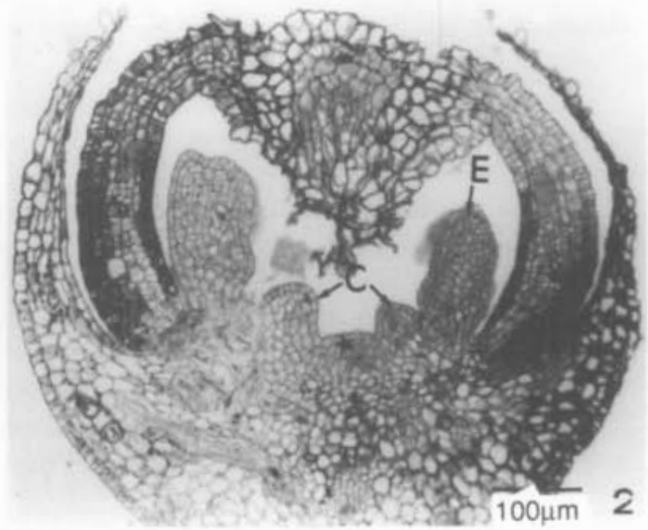
MATÉRIEL ET MÉTHODES

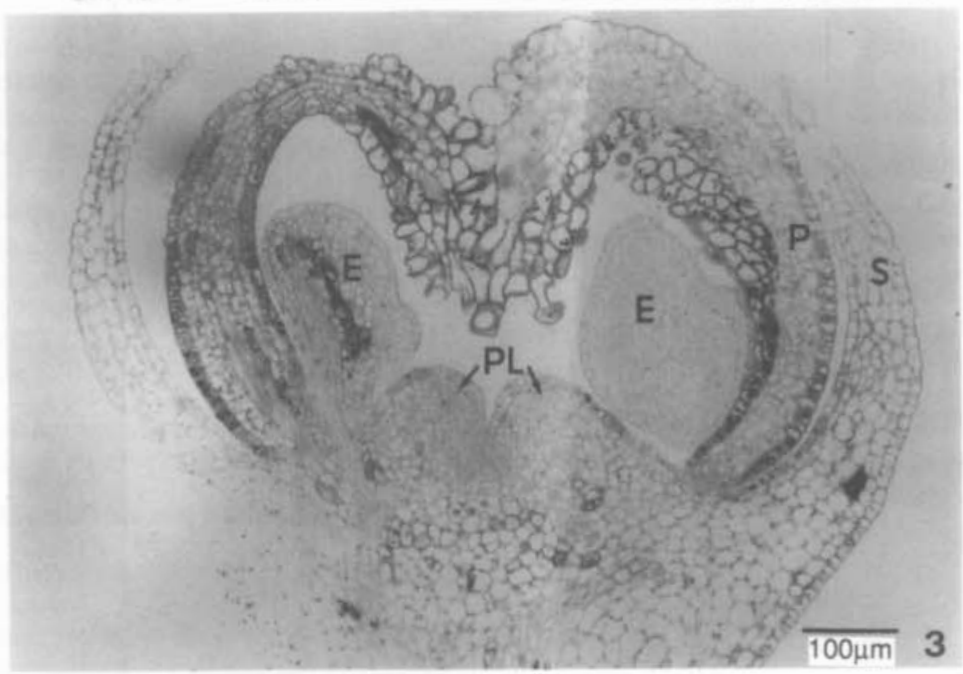
La chronologie du développement du gynécée a été étudiée sur le cépage Chardonnay. Les prélèvements ont été effectués régulièrement dans une vigne du domaine de Couhins à Villenave d'Ornon (centre INRA de Bordeaux).

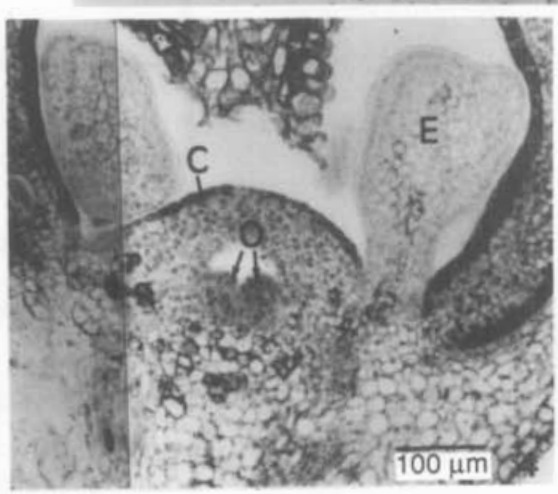
Les échantillons ont été fixés par le glutaraldéhyde puis par le tétroxyde d'osmium tamponnés, inclus dans l'épon, coupés (1 -1,5 µm d'épaisseur) et colorés selon les méthodes déjà décrites (FOUGÈRE-RIFOT et *al.*, 1993a).

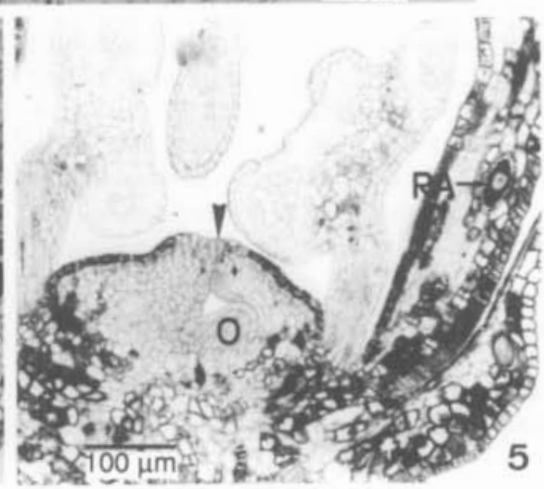

STADE 4
100 µm
1
STADE 5
100µm
2
RA
STADE 6
3
100 µm
STADE 7
100 µm
4


S
P
E
100 µm
1


E
C
100µm
2


E
E
P
S
PL
100µm
3


C
E
O
100 µm


RA
O
100 µm
5

Stade 4 : Émergence des étamines

Photo 1 - schéma 1 — Coupe longitudinale dans un bouton. Après les sépales et les pétales, les émergences des étamines prennent naissance en périphérie du plateau central (astérisque).

Stade 5 : Émergence des carpelles

Photo 2 et schéma 2 — Coupe longitudinale dans un bouton. Les carpelles apparaissent après les étamines en périphérie du plateau central (astérisque).

Stade 6 : Émergence des placentas et des primordiums ovulaires

Photo 3 et schéma 3 — Coupe longitudinale dans un bouton. Formation des régions placentaires par bourgeonnement centripète de deux lames qui s'affrontent dans le plan médian.

Photo 4 — Coupe longitudinale dans le même bouton que celui de la photo 3. La coupe ne passe pas par le sommet du gynécée. Deux initiums ovulaires sont présents, plaqués contre les placentas de la photo 3.

Stade 7 : Fermeture de l'ovaire

Photo 5 et schéma 4 — Coupe longitudinale au niveau du gynécée. Affrontement des sommets carpellaires (tête de flèche) : l'ovaire devient fermé. Les très jeunes ovules sont inclinés vers l'extérieur.

Des coupes ont été traitées par l'acide periodique et le réactif de Schiff (PAS) afin de mettre en évidence certains polysaccharides.

Quelques échantillons ont été congelés par l'azote liquide (- 196°C), lyophilisés, métallisés sous vide par une projection d'or et de palladium et observés en microscopie électronique à balayage.

Certains ovaires préparés pour la microscopie à fluorescence ont été fixés par le F.A.A., ramollis par de la soude 8N et colorés par le bleu d'aniline à 0,1 p. cent dans une solution tripotassique 0,1 N. L'observation a été faite à l'aide d'une lampe à mercure HBO 200W/4, avec un filtre d'excitation dans le violet (longueur d'onde 365 nm).

RÉSULTATS

Les résultats obtenus permettent de distinguer vingt stades. Les stades 1 à 7 se déroulent pendant le stade « grappes visibles » (F) de BAGGIOLINI (1952), les stades 8 à 10 pendant le stade « grappes séparées » (G), les stades 11 à 16 pendant le stade « boutons floraux séparés » (H), les stades 17 à 19 pendant le stade « floraison » (I) et le stade 20 pendant le stade « nouaison » (J).

1) Stade 1 : Méristème initial

L'extrémité des pédoncules fertiles est formée de petites cellules indifférenciées constituant le méristème initial.

2) Stade 2 : Émergence des sépales

Les plus jeunes boutons reconnaissables sont constitués par un petit massif individualisé de cellules méristématiques bordé par cinq appendices très courts et très minces représentant les ébauches des sépales. Le calice, observé en microscopie à balayage, apparaît « sous forme de trois primordiums, suivi d'un anneau qui ébauchera cinq lobes » (POSLUSZNY et GERRATH, 1986) ou sous forme d'un anneau continu sur le bord du futur sommet floral (SRINIVASAN et MULLINS, 1981). BERNARD et CHALIES.(1986) décrivent l'apparition du calice « en forme d'anneau festonné ».

Les cellules de l'épiderme externe de ces ébauches renferment déjà quelques petites vacuoles à tanins.

3) Stade 3 : Émergence de la corolle

La très jeune inflorescence est constituée de nombreux boutons de taille très différente; certains mesurent moins de 150 µm de diamètre; d'autres dépassent 400 µm de diamètre.

Chaque jeune bouton est enserré à l'intérieur des sépales qui s'allongent. La corolle n'est représentée que par des mamelons dressés vers le sommet du bouton, séparés par une zone méristématique située dans l'axe médian du bouton.

Des petites vacuoles tanniques continuent de se former dans les cellules de la base de l'épiderme externe des sépales, c'est-à-dire dans les plus proches du réceptacle floral.

4) Stade 4 : Émergence des étamines (photo 1 et schéma 1)

Les sépales recouvrent le très jeune bouton. Les pièces de la corolle, nées en périphérie du réceptacle,

s'allongent et s'incurvent; elles forment des lames recourbées en arc de cercle vers le centre du bouton et dont les sommets, libres, très proches les uns des autres, s'affrontent par leur face dorsale, c'est-à-dire par leur épiderme externe. Elles préfigurent le capuchon (calyptra) du jeune bouton.

A proximité de la base de la corolle, les ébauches des étamines sont de gros mamelons de cellules indifférenciées, nettement séparées dans la région médiane du réceptacle floral par un plateau central méristématique (photo 1 et schéma 1).

Les cellules épidermiques des sépales et de la corolle possèdent des vacuoles à tanins. De même, quelques cellules du réceptacle floral sont tanniques.

5) Stade 5 : Émergence des carpelles (photo 2 et schéma 2)

Le bouton s'allonge et à son sommet les sépales sont écartés par la croissance des pièces florales plus internes. Les bords supérieurs libres de la corolle se soudent : il se forme ainsi le capuchon ou calyptra, sorte de dôme dont le centre s'invagine vers l'axe du bouton et dont les bords soudés constituent la clef de voûte soutenant les autres parties du dôme.

Les étamines grandissent et leur sommet dressé présente une ébauche d'anthère.

Au centre, entre les étamines en cours de différenciation, les émergences des carpelles pointent à la périphérie du plateau central méristématique, prolongement du réceptacle floral.

De nombreuses vacuoles tanniques apparaissent dans la partie inférieure du capuchon aussi bien dans les épidermes que dans le parenchyme médian.

6) **Stade 6 : Émergence des placentas et des primordiums ovulaires** (photo 3 et schéma 3, photo 4)

Deux demi-bourrelets émergent du plateau central et portent chacun deux minuscules primordiums ovulaires. Les demi-bourrelets atteignent le bord des ébauches carpellaires et partagent en deux, selon un diamètre, la base de l'ovaire en construction. Ces demi-bourrelets forment rapidement deux lames assez courtes (de 100 à 150 µm de haut) qui s'affrontent dans le plan médian du bouton (photo 3, schéma 3). Leurs bases constituent les régions fertiles ou placentas qui portent chacun une ébauche d'ovule de part et d'autre (photo 4), soit au total quatre initiums ovulaires accolés aux placentas et plaqués contre la base des ébauches des parois carpellaires. Ces quatre initiums sont des mamelons méristématiques, bien individualisés dès leur apparition. Au-dessus des régions placentaires basales, les deux lames constituent une partie de la columelle qui partagera l'ovaire en deux loges.

Les parois carpellaires s'allongent et leurs extrémités s'incurvent en direction de l'axe du bouton mais l'ovaire est encore largement ouvert à son sommet.

De nombreuses vacuoles tanniques sont présentes dans les épidermes du capuchon et même dans des cellules des anthères, mais les localisations des tanins dans les pièces stériles du bouton ou dans les étamines ne semblent pas constituer des indices sur la vitalité ou l'état morbide du bouton floral. Par contre, le début de la synthèse des tanins dans certains tissus du gynécée à des stades précis du développement constitue un indice à relever car il reflète non seulement l'état physiologique des cellules mais aussi celui des organes concernés. La manière dont les tanins se présentent n'est pas sans conséquence sur le développement normal ou anormal du bouton et peut conduire à une coulure plus ou moins précoce.

A ce stade, quelques vacuoles tanniques sont décelables dans toutes les cellules de la partie basale de l'épiderme externe des ébauches carpellaires.

7) Stade 7 : Fermeture de l'ovaire (photo 5 et schéma 4)

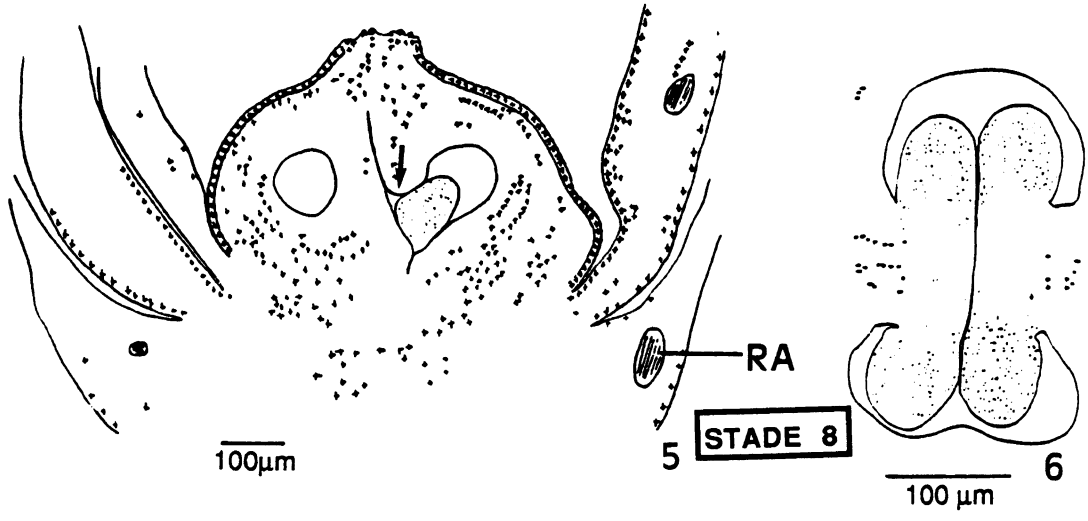
Les sommets des carpelles se rejoignent et se soudent par leurs épidermes externes sur une hauteur d'une centaine de microns (photo 5, schéma 4). De plus, la partie médiane de l'extrémité des parois carpellaires s'allonge et plonge vers l'axe du bouton en direction des deux demi-lames placentaires. L'ovaire est devenu un ovaire clos, mais incomplètement divisé en deux loges.

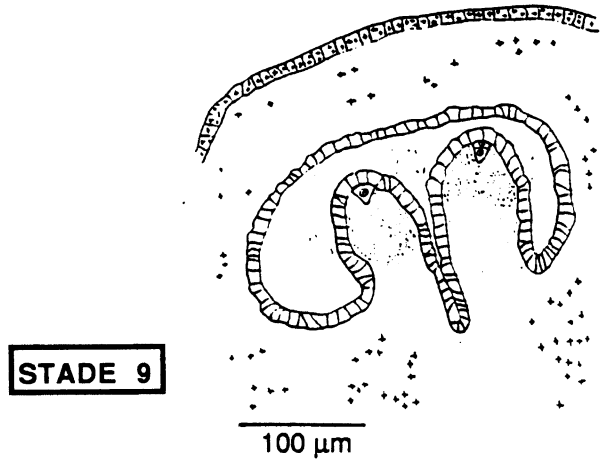
Les jeunes ovules sont dressés, légèrement inclinés vers l'extérieur et encore à l'état méristématique (photo 5).

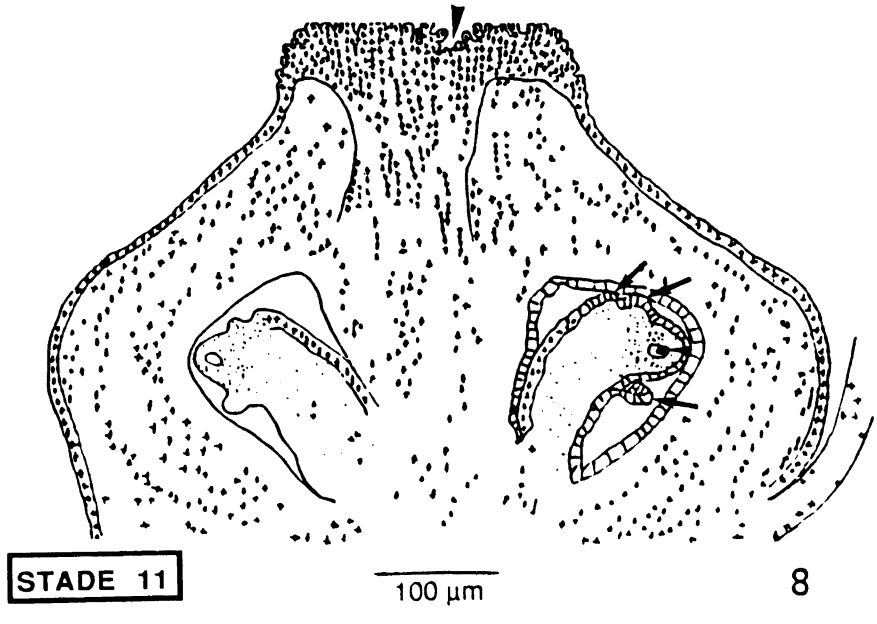
Les vacuoles tanniques sont présentes dans toutes les cellules de l'épiderme externe des carpelles, même dans la zone de soudure. Quelques cellules du parenchyme carpellaire sont tanniques ainsi que quelques très rares cellules de la base des placentas. Les ovules sont totalement dépourvus de tanins.

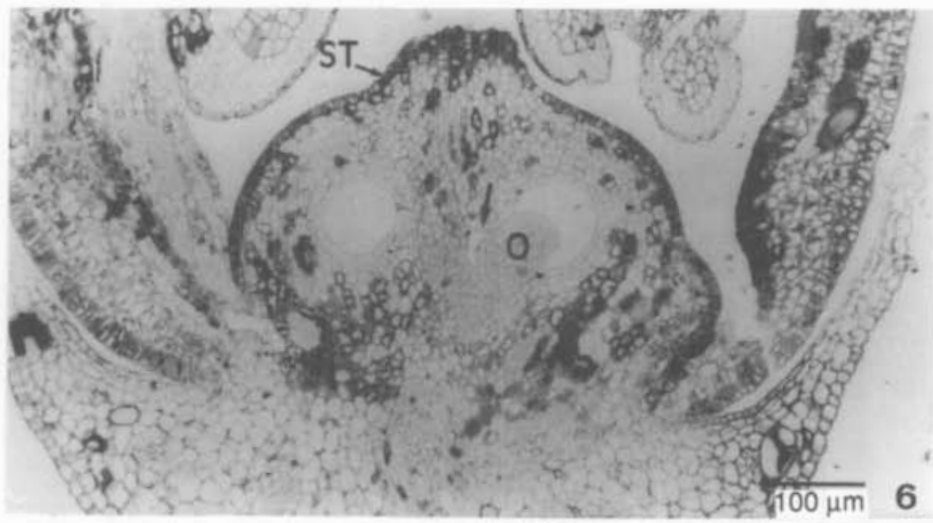
8) Stade 8 : Ovaire biloculaire à quatre ovules méristématiques et formation de la columelle (photo 6 et schéma 5, photo 7 et schéma 6)

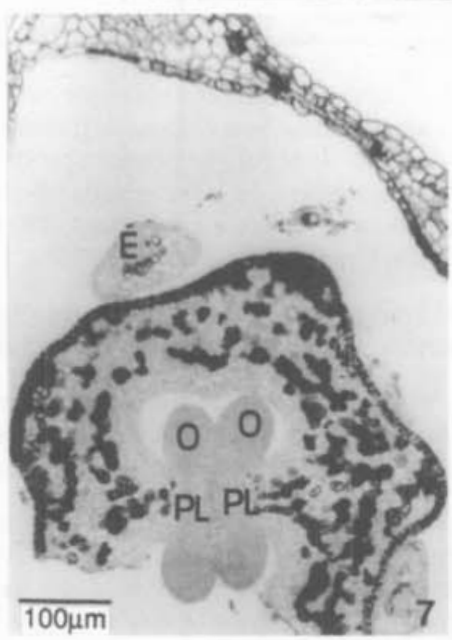
L'ovaire totalement fermé à son sommet est partagé en deux loges biovulées presque parfaitement closes par la croissance sur sa base des deux demi-lames placentaires incomplètement soudées entre elles ; de plus, ces deux demi-lames sont surmontées par

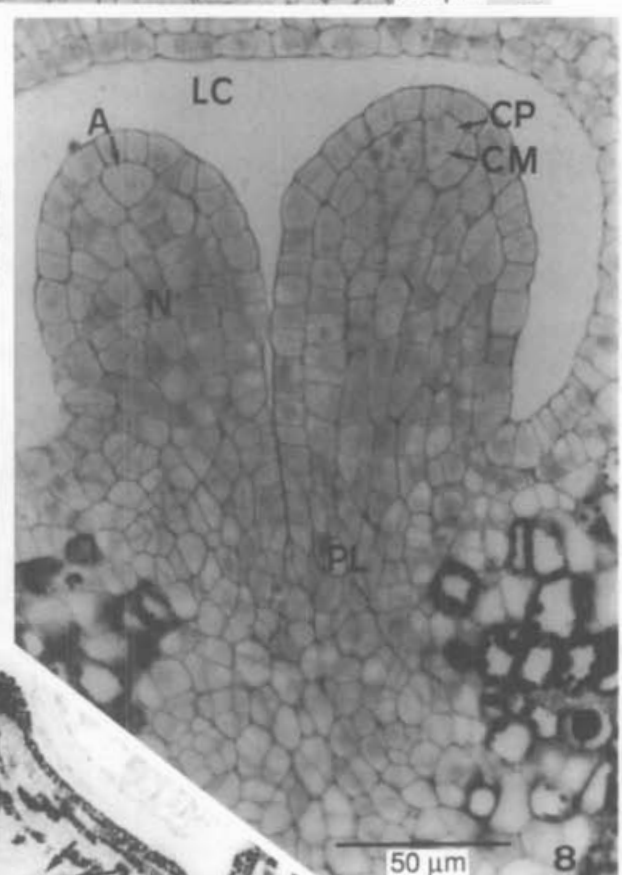

RA
100µm
5
STADE 8
100 µm
6

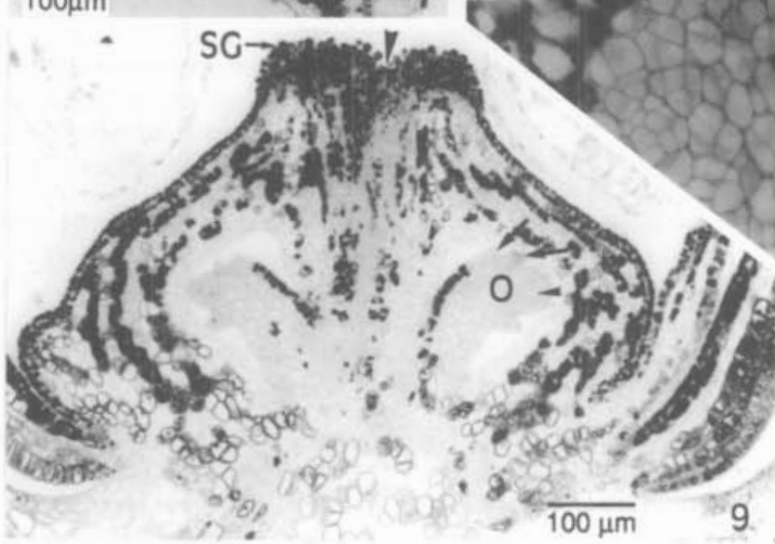

STADE 9
STADE 10
100 µm
7


STADE 11
100 µm
8


ST
O
100 µm
6


E
O O
PL PL
100µm
7


LC
A
CP
CM
N
PL
50 µm
8


SG
O
100 µm
9

Stade 8 : Ovaire biloculaire à quatre ovules méristématiques et la formation de la columelle

Photo 6 - schéma 5 — Coupe longitudinale dans un ovaire fermé avec ébauche du style et du stigmate. La paroi carpellaire plonge (flèche) depuis le sommet vers les placentas. Les ovules sont méristématiques.

Photo 7 - schéma 6 — Coupe transversale dans un gynécée du même âge que celui de la photo 6. Les quatre ovules sont méristématiques et insérés sur la base placentaire qui commence à partager l'ovaire en deux loges.

Stade 9 : Ébauche du style et du stigmate et apparition de l'archéspore et stade 10 : Allongement du style et du stigmate et mitose de l'archéspore

Photo 8 - schéma 7— Coupe longitudinale dans un ovaire. Deux jeunes ovules sont dressés dans une loge carpellaire : au sommet de l'ovule de gauche et immédiatement sous l'épiderme, l'archéspore s'est différenciée à partir d'une cellule nucellaire; au sommet de l'ovule de droite, l'archéspore vient de terminer une mitose donnant naissance à une cellule pariétale sous épidermique et à la cellule mère des macrospores (= cellule sporogène).

Stade 11 : Individualisation de la cellule mère des macrospores et ébauche de la calotte nucellaire

Photo 9 - schéma 8 — Ovaire clos en coupe longitudinale. Les papilles stigmatiques s'allongent tandis que le centre du stigmate présente une dépression (grande tête de flèche). Les ovules s'incurvent vers l'extérieur. Les deux bourrelets tégumentaires sont apparents (flèches). La cellule sporogène (petite tête de flèche) est repoussée vers la chalaze par la formation de la calotte nucellaire

l'affrontement des extrémités recourbées vers le centre du bouton des bords supérieurs et médians de la paroi carpellaire, extrémités qui viennent s'appuyer sur les lames placentaires et sur l'épiderme dorsal des jeunes ovules (photo 6, schéma 5). En fait, d'une part, l'affrontement des bords carpellaires est incomplet et délimite ainsi une fissure longitudinale, et d'autre part, la rencontre des demi-lames placentaires et de la portion intériorisée de la paroi carpellaire est également inachevée et laisse subsister un interstice entre les deux loges carpellaires.

Au total, la cloison ou columelle qui se construit dans l'ovaire a une origine double : une partie inférieure dont la base est le placenta et une partie supérieure ou paroi carpellaire médiane intériorisée. De par leur formation, les deux parties conservent une étroite fissure longitudinale et de surcroît, il subsiste une étroite fissure transversale, légèrement courbe et oblique, qui suit la surface de l'affrontement des deux tissus qui constituent, à partir de ce stade, la cloison médiane de l'ovaire (columelle). Chacune de ces fissures est bordée par un épiderme d'origine et de caractères différents selon les tissus qui les bordent.

Au sommet de l'ovaire, les parois carpellaires affrontées ne dessinent qu'une très petite ébauche du style et du stigmate (photo 6). L'ovaire atteint approximativement la hauteur des sépales qui, à ce stade, ont achevé leur croissance.

Les ovules grandissent, atteignent 75 µm de haut. Le nucelle apparaît comme un massif cellulaire entièrement méristématique et sans tanins limité par un épiderme régulier (photo 7).

A partir de ce stade, chaque ovule commence à s'écarter nettement de la columelle. L'inclinaison de l'ovule est mesurée par l'angle défini par l'axe vertical de la columelle, c'est-à-dire celui de l'ovaire, et par l'axe passant par le plan médian du nucelle ovulaire ; à ce stade, l'inclinaison est d'environ 65°.

9) Stade 9 : Ébauche du style et du stigmate et apparition de l'archéspore (photo 8 et schéma 7)

L'ovaire fermé est biloculaire avec cependant la persistance au niveau de la columelle des fissures longitudinale et transversale oblique définies plus haut.

Les bords carpellaires affrontés mais non complètement soudés s'allongent vers le sommet de l'ovaire et dessinent une ébauche de style bordée par le prolongement de l'épiderme externe de la paroi carpellaire. Dans la région médiane du style en cours d'édification, l'affrontement carpellaire a mis en place un très étroit canal stylaire, prolongement de la fissure longitudinale et bordé par le même épiderme qui se poursuit par celui des loges carpellaires.

Les ovules s'allongent et le nucelle, constitué de cellules méristématiques, est porté par un pédicelle trapu ou funicule. A la base du nucelle, un bourrelet annulaire fait légèrement saillie; il correspond à la première ébauche du tégument interne de l'ovule (photo 8, schéma 7).

L'inclinaison des ovules par rapport à l'axe de la columelle est d'environ 45° ; cette inclinaison diminue, mais dans le même temps le sommet du nucelle amorce une courbure : le sommet de l'ovule commence à se pencher vers l'extérieur et l'angle de courbure,

c'est-à-dire l'angle défini par le plan médian du nucelle et par celui du funicule, est d'environ 30°.

Au sommet de l'ovule, immédiatement sous l'épiderme et dans l'axe du nucelle, une cellule est remarquable par sa taille, supérieure à celle des cellules nucellaires voisines, et par sa forme en pyramide renversée très large à sa base. Cette cellule correspond à l'archéspore (photo 8) dont le développement ultérieur conduit à la formation de la calotte pariétale et au sac embryonnaire. L'archéspore a des caractères de cellule jeune, aux organites peu différenciés et au noyau volumineux.

10) Stade 10 : Allongement du style et du stigmate. Mitose de l'archéspore (photo 8 et schéma 7)

Au sommet de l'ovaire, le style et le stigmate sont encore très courts. Très rapidement, le style s'allonge; issu de la multiplication des cellules du sommet des carpelles, il est constitué de files cellulaires orientées selon l'axe de l'ovaire. Comme dans la paroi carpellaire, des cellules tanniques sont présentes, regroupées en massifs de quelques unités, le plus souvent alignées dans l'axe du style c'est-à-dire selon son axe de croissance. Les cellules épidermiques du style, prolongement de celles de la paroi carpellaire, sont toutes fortement tanniques.

A l'extrémité du style, le stigmate est en cours d'élaboration; chaque papille est formée par une file de trois ou quatre petites cellules dont les plus externes possèdent des vacuoles tanniques bien développées.

Dans les loges carpellaires, les quatre ovules accentuent leur courbure.

L'archéspore subit une mitose péricline qui donne naissance à deux cellules inégales superposées dans l'axe du nucelle : la plus externe, directement sous-épidermique, petite et aplatie est la cellule pariétale; la plus interne, beaucoup plus grande est la cellule sporogène ou cellule mère des macrospores (photo 8).

11) Stade 11 : Cellule mère des macrospores et ébauche de la calotte nucellaire (photo 9 et schéma 8)

L'ovaire grandit. Le style s'allonge. Des cellules de plus en plus nombreuses deviennent tanniques. De même, chaque papille stigmatique est formée de quatre à six cellules riches en tanins. Au centre du stigmate, une petite dépression, à peine perceptible, allongée selon un diamètre, correspond au point de rencontre des carpelles.

La paroi carpellaire et la columelle ont également de plus en plus de cellules tanniques souvent regroupées en petits massifs de quelques unités.

Chaque ovule poursuit sa courbure : son axe est devenu approximativement horizontal. Le tégument interne est encore très court; il dessine un anneau complet qui grandit en direction du sommet de l'ovule tout en s'écartant de l'épiderme du nucelle. Il n'est encore constitué que de quelques cellules : deux ou trois en épaisseur et trois ou quatre en longueur.

L'esquisse d'un deuxième tégument ou tégument externe apparaît immédiatement en dessous du premier ; elle dessine un anneau incomplet, plus développé du côté externe de la courbure et, pratiquement absent du côté de la pliure de l'ovule; il présente un très net retard de croissance par rapport au premier (photo 9).

Près du sommet du nucelle, la cellule mère des macrospores s'élargit et s'allonge dans l'axe de l'ovule. Elle est nettement plus grande que les cellules voisines. Son noyau devient très important. La cellule pariétale subit quelques mitoses périclines. Il se forme ainsi la première ébauche de la calotte nucellaire.

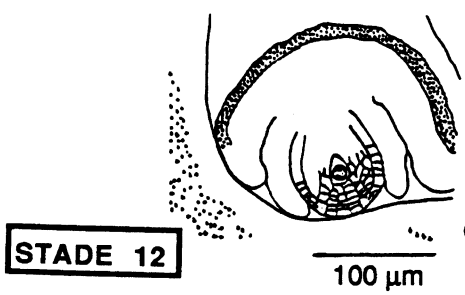
Des vacuoles tanniques apparaissent pour la première fois dans les ovules. La date d'apparition des premiers tanins ovulaires et surtout la localisation très précise des cellules tanniques constituent des indices très sûrs quant à la viabilité des ovules. Les premières à devenir tanniques sont toutes les cellules de l'épiderme externe du funicule situées du côté de la columelle, depuis la base du funicule jusqu'à environ 30 à 50 µm (soit quatre à six cellules) en dessous de l'ébauche du tégument externe. Dans ce secteur, toutes les cellules possèdent de grandes vacuoles à tanins.

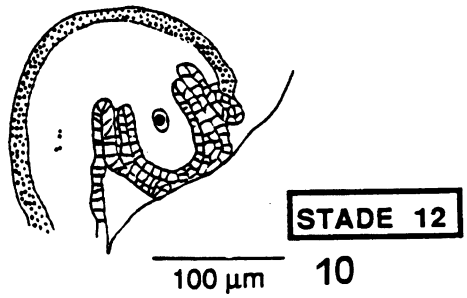
12) Stade 12 : Croissance de la cellule-mère des macrospores et mise en place de la calotte épidermique (photo 10, photo 11 et schéma 9, photo 12 et schéma 10, photo 13 et schéma 11)

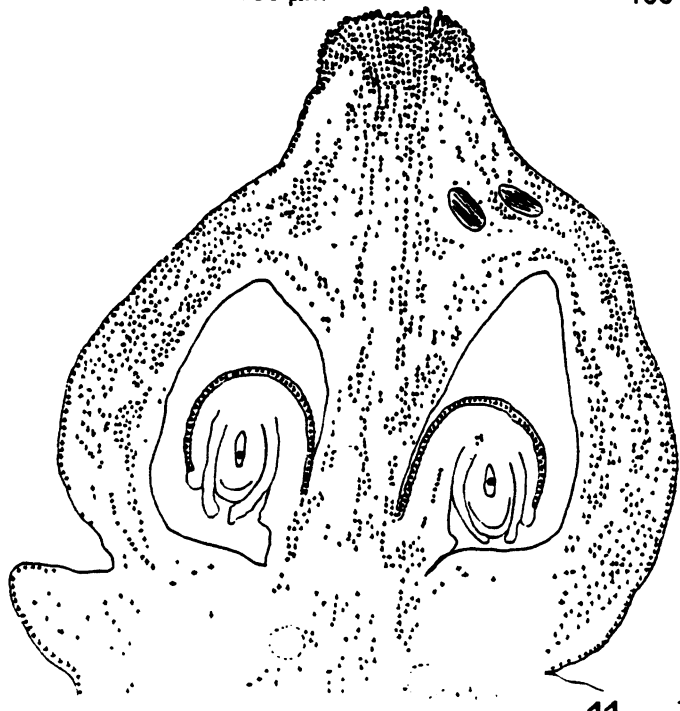
L'ovaire poursuit sa croissance (photo 10). Il mesure approximativement 900 µm de haut et 900 µm dans sa plus grande largeur. Le nombre de cellules tanniques augmente dans la paroi carpellaire et dans la columelle. De grandes et longues cellules à raphides d'oxalate de calcium sont fréquentes à la base du style. Les papilles stigmatiques sont nombreuses, serrées les unes contre les autres et formées de files de cinq à six cellules très fortement tanniques. L'oxalate de calcium est également présent sous forme de macles dans la couche de cellules sous-épidermiques des loges carpellaires.

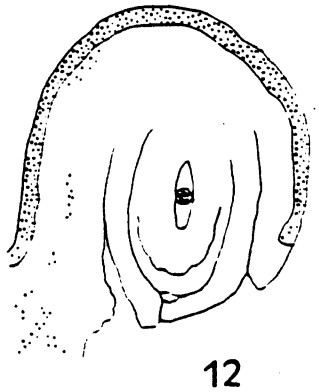
Les ovules accentuent leur retournement; l'angle de courbure est proche de 180° (photo 11).

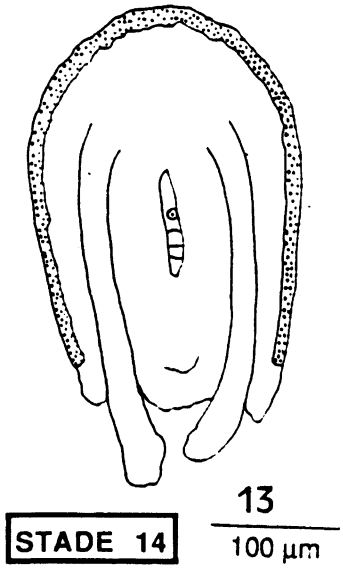
Les téguments interne et externe poursuivent leur croissance en direction du sommet ovulaire, en particulier le tégument interne s'étire et dépasse le sommet

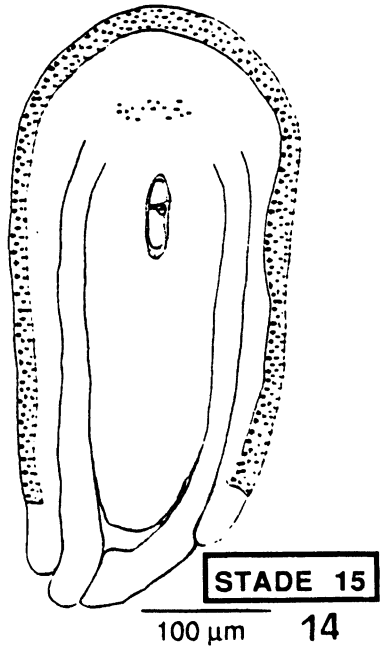

STADE 12
100 µm
9

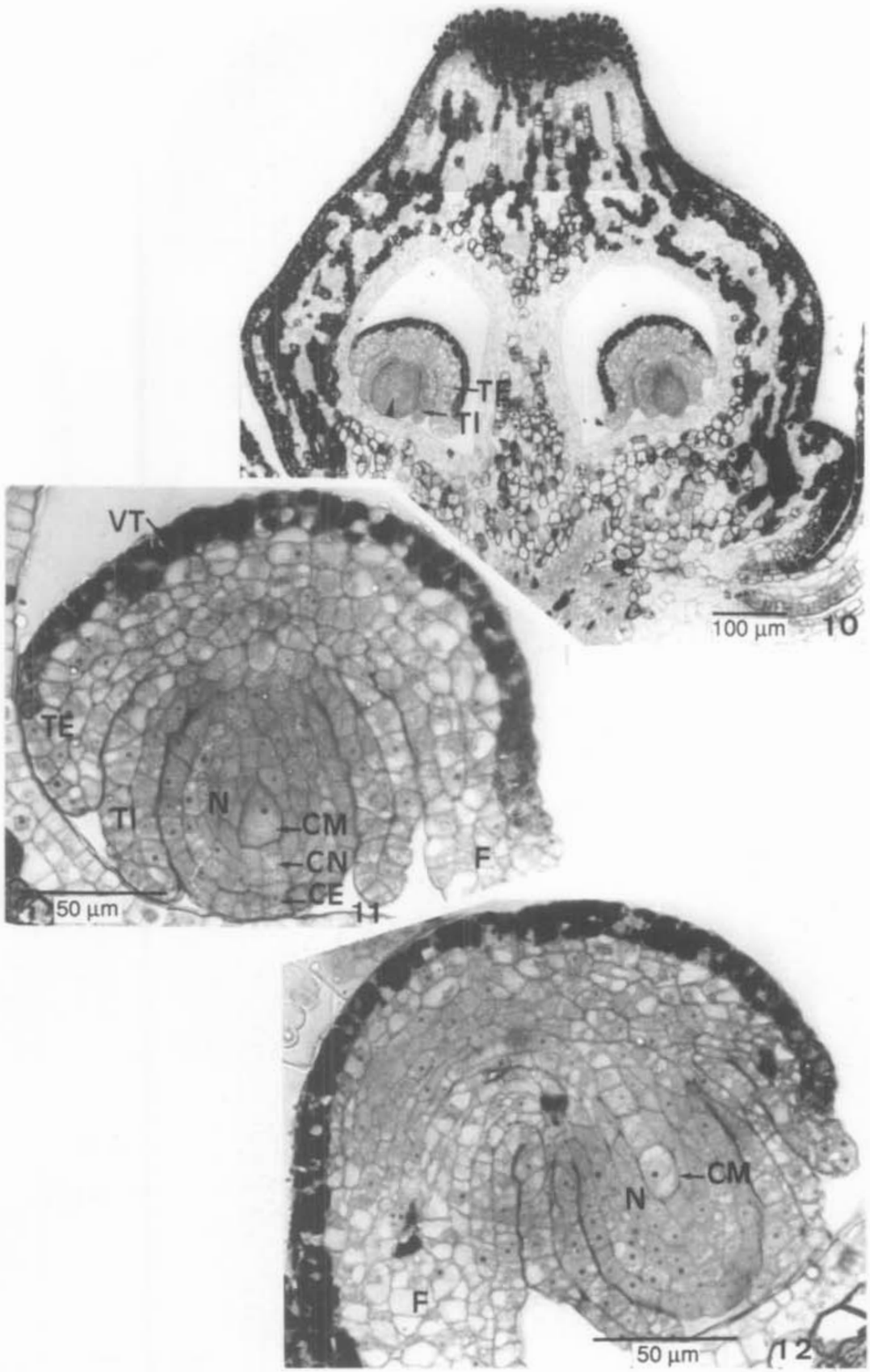

STADE 12
100 µm
10

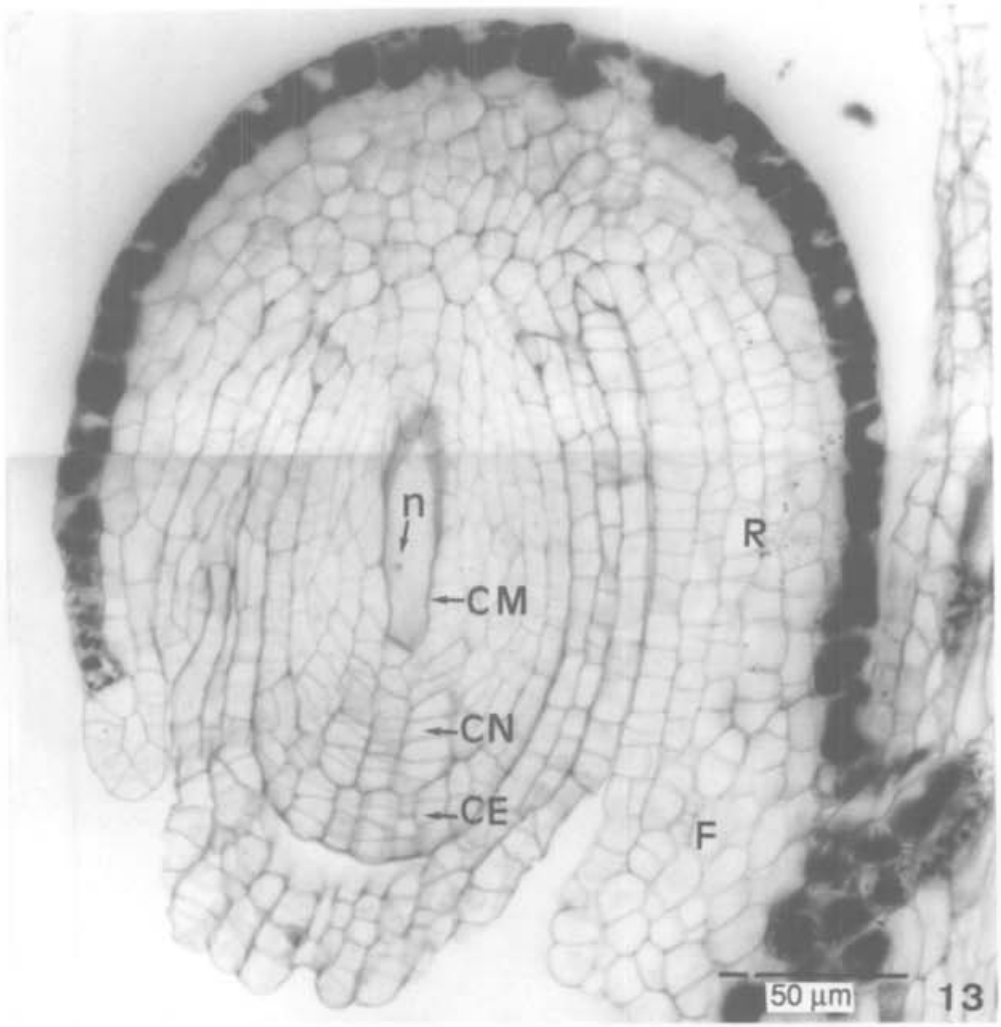

STADE 12
100 µm
11

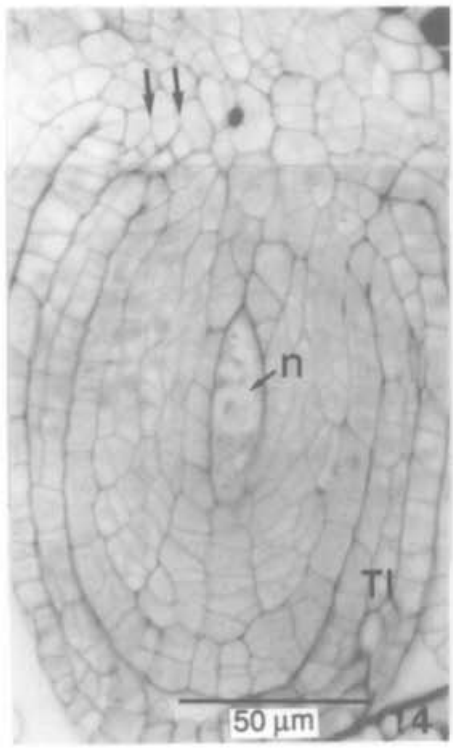

STADE 13
100 µm
12


STADE 14
100 µm
13

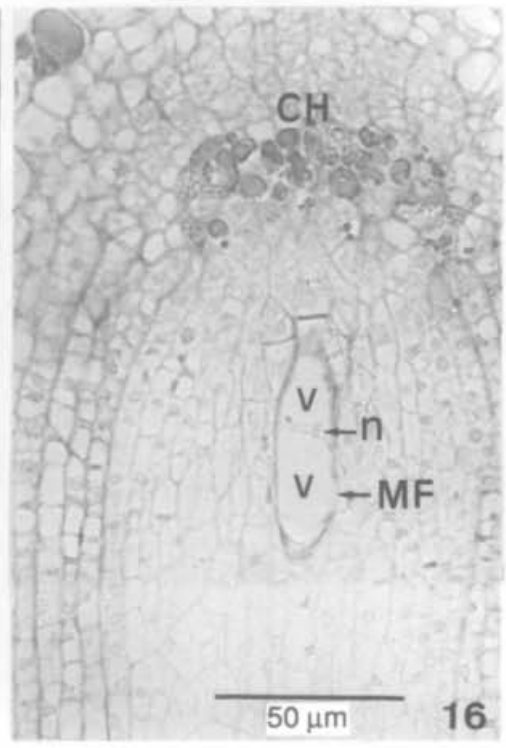

STADE 15
100 µm
14


TE
TI
100 µm
10
VT
TE
TI
N
CM
CN
CE
F
50 µm
11
CM
N
F
50 µm
12


n
CM
CN
CE
R
F
50 µm
13


n
TI
50 µm
14


MF
n
25 µm
15


CH
v
n
v
MF
50 µm
16

Stade 12 : Croissance de la cellule mère des macrospores et mise en place de la calotte épidermique

Photo 10 — Coupe longitudinale dans un ovaire. Les ovules sont presque complètement retournés et leurs téguments ont grandi. La cellule sporogène (petite tête de flèche) est encore petite, mais déjà repoussée vers la chalaze par la croissance des calottes. Les téguments de l'ovule sont en formation.

Photo 11 - schéma 9 — Même ovaire que celui de la photo 10, fort grossissement au niveau de l'ovule de gauche. Remarquer la situation des cellules à vacuole tannique et la formation des calottes. La cellule sporogène est un peu plus grande que les cellules nucellaires voisines.

Photo 12 - schéma 10 — Coupe longitudinale dans un ovule légèrement plus âgé que celui de la photo 11. La cellule sporogène a grandi. Elle s'allonge dans l'axe du nucelle et est repoussée vers la chalaze par la croissance des calottes.

Photo 13 - schéma 11 — Coupe longitudinale dans un ovule. La cellule sporogène s'est encore allongée.

Stade 13 : Méiose de la cellule sporogène (= cellule mère des macrospores)

Photo 14 - schéma 12 — Coupe longitudinale dans un ovule dont la cellule sporogène est en prophase méiotique.

Stade 14 : Tétrade de macrospores

Photo 15 - schéma 13 — Coupe longitudinale dans un ovule. La méiose de la cellule sporogène a donné naissance à une tétrade de macrospores. La macrospore fertile est située vers la chalaze. Remarquer le cloisonnement cellulaire régulier des deux calottes et, en particulier, celui de la calotte nucellaire.

Stade 15 : Macrospore fertile

Photo 16 - schéma 14 — Coupe longitudinale dans un ovule. Seule la macrospore fertile subsiste. Sa vacuolisation est caractéristique.

nucellaire mais ses bords ne délimitent pas encore le canal micropylaire (photos 11 et 12). Sur le dos de l'ovule, le funicule soudé au tégument externe forme le raphé (photo 13).

La croissance des deux calottes enfonce profondément la cellule sporogène dans le nucelle. La première apparue ou calotte nucellaire est formée de quatre ou cinq épaisseurs cellulaires, résultat des mitoses périclines et anticlines de la cellule pariétale; vers la fin de la méiose, elle est formée par une dizaine de cellules si régulièrement empilées que cette calotte évoque une multiplication cellulaire de type cambial. La deuxième ou calotte épidermique commence à s'édifier par le dédoublement des cellules épidermiques du sommet ovulaire; elle reste plus mince que la première avec seulement trois ou quatre assises cellulaires à la fin de la croissance de la cellule sporogène.

La cellule sporogène ou cellule-mère des macrospores a des parois épaisses. Elle est plus grande que les cellules nucellaires voisines. Elle mesure environ 25 µm de long sur 10 de large (photo 11) et s'allonge encore dans l'axe du nucelle sans s'accroître en largeur (photo 13). De chaque côté de cette cellule, cinq ou six épaisseurs de cellules seulement constituent le nucelle (y compris l'épiderme nucellaire).

Durant toute cette période, les cellules tanniques deviennent de plus en plus nombreuses. Toutes les cellules de l'épiderme externe du funicule prolongé par celui du tégument externe sont tanniques sauf les quatre ou cinq dernières cellules de l'extrémité du bourrelet tégumentaire (photos 11,12, 13). Quelques vacuoles à tanins apparaissent dans les cellules parenchymateuses du funicule.

13) Stade 13 : Méiose de la cellule sporogène (= cellule mère des macrospores) (photo 14 et schéma 12)

La cellule sporogène s'allonge (30-40 µm de long) (photo 13) et entre en méiose (photo 14). Elle continue de s'étirer dans l'axe du nucelle et atteint environ 50 µm de long et parfois 70 avant la fin de la méiose.

Le nombre de cellules tanniques augmente en particulier au niveau du funicule.

14) Stade 14 : Tétrade de macrospores (photo 15 et schéma 13)

L'ovule, complètement retourné, s'allonge (440 µm de long). Les téguments grandissent et les bords du tégument interne délimitent le micropyle.

Les macrospores forment une tétrade linéaire, allongée dans l'axe de l'ovule.

A la fin de la méiose, les quatre macrospores sont semblables et occupent exactement l'emplacement de la cellule sporogène (plus de 50 µm de long sur 10 de large environ).

Très rapidement, la tétrade s'allonge, atteint 80 µm. En fait, seule la macrospore fertile poursuit son développement; les trois autres commencent à régresser et la macrospore fertile les repousse et prend progressivement leur place (photo 15). Le développement est monosporique.

15) Stade 15 : Macrospore fertile (photo 16 et schéma 14)

L'ovule est retourné. A partir de ce stade, la limite entre les deux calottes commence à s'estomper.

La macrospore fertile (40 µm de long) est, en général, la plus chalazienne (BERNARD et CHALIES, 1987). Elle est turgescente, avec un noyau central entouré de grosses vacuoles aux deux pôles de la cellule. Sa paroi est épaisse (photo 16, schéma 14).

De très nombreuses cellules tanniques sont présentes dans le funicule, le long du faisceau vasculaire, jusqu'à la chalaze. Le tégument interne et le nucelle en sont totalement dépourvus.

16) Stade 16 : Formation du sac embryonnaire (photo 17 et schéma 16, photo 18 et schéma 16, photo 19, photo 20 et schéma 15, schéma 17)

Huit ou dix jours avant la chute du capuchon, le bouton floral est très gros.

L'ovule s'est encore allongé et est devenu nettement plus long que large (environ 600 µm sur 270). Les calottes ont terminé leur croissance et subissent déjà un début d'écrasement dû à l'accroissement du sac embryonnaire.

La macrospore fertile, devenue très allongée dans l'axe du nucelle, subit des mitoses (peut être incomplètes dans un premier temps) et donne naissance à un sac embryonnaire très rapidement cellularisé. Il se forme selon le type Polygonum (classification de MAHESHWARI, 1950) en accord avec la brève description faite PRATT (1971). Le sac est cylindrique, mesure 180 à 200 µm de long et environ 30 de large. Son allongement du côté chalazien se heurte aux cellules à parois épaissies de l'hypostase (photo 18).

Au pôle micropylaire, trois cellules morphologiquement identiques représentent les deux synergides et l'oosphère (schéma 17). Elles sont aplaties, peu vacuolisées, pourvues d'un volumineux noyau (photo 17). Très rapidement, les synergides forment une grande vacuole du côté chalazien (photos 19 et 20).

Au pôle chalazien, les antipodes, enfoncées dans un étroit coecum, sont étirées et présentent une vacuole importante du côté chalazien qui repousse le noyau vers la cellule centrale, au débouché du coecum (photo18). Cette situation et cette morphologie sont assez peu fréquentes chez les angiospermes pour être signalées (FOUGÈRE-RIFOT et BOUARD, 1992 ; FOUGÈRE-RIFOT et *al.* 1993b ; BOUARD et *al.*, 1994). Les antipodes sont éphémères et sont très rapidement écrasées par la pression de la cellule centrale.

Toute la partie centrale du sac est occupée par l'énorme cellule centrale binucléée : un noyau polaire côté micropylaire (photo 19) et un noyau polaire côté chalazien, tous deux localisés dans de très fins tractus cytoplasmiques. Cette cellule est très vacuolisée, et l'accroissement de son système vacuolaire est responsable du grandissement important et rapide du sac embryonnaire.

A ce stade, les vacuoles tanniques ont presque atteint leur maximum de développement. Elles sont présentes dans toutes les cellules de l'épiderme interne du tégument ovulaire interne jusqu'au canal micropylaire, dans toutes les cellules de l'épiderme externe du tégument externe, dans de nombreuses cellules du parenchyme du funicule et du tégument externe, dans les cellules périvasculaires du funicule jusqu'à la chalaze.

17) Stade 17 : Maturité du sac embryonnaire, chute du capuchon et pollinisation (photos 21, 22, 23 et schéma 19 ; photos 24, 25, 26, photo 27 et schéma 18 ; photo 29 ; photo 37)

Le capuchon tombe d'une seule pièce, soulevé par l'allongement des filets staminaux. Dès la chute du capuchon, les anthères s'ouvrent et libèrent le pollen. Dans quelques très rares cas, l'anthèse a lieu dans le bouton.

Le stigmate est jaune clair, formé de papilles dressées, bien turgescentes, prêtes à recevoir le pollen (photo 29).

Lorsque le stigmate est réceptif, de nombreux grains de pollen commencent à germer sur les papilles. Chaque grain présente trois sillons allongés présentant en leur milieu un pore ou aperture (photo 37). Le tube pollinique sort au niveau d'une aperture et longe la surface des papilles en direction de la base du stigmate. De nombreux grains sont accolés au bord de la dépression en entonnoir aplati du stigmate.

Les ovules ont poursuivi leur croissance, ils mesurent 7 à 800 µm de long sur 3 à 400 de large. Leur charge tannique est quasi constante depuis le stade précédent, sauf dans la région chalazienne où elle augmente; cette région située entre le faisceau vasculaire et le nucelle est caractérisée par des cellules fortement chargées en tanins.

Le sac embryonnaire est très long (350 µm environ), légèrement pincé dans sa partie médiane.

Au pôle micropylaire, les deux synergides et l'oosphère, bien différenciées, ont acquis leurs caractères spécifiques. En particulier, l'oosphère a formé une grande vacuole micropylaire qui repousse le noyau vers la cellule centrale (photo 21), et les synergides ont chacune sécrété un appareil filiforme allongé (13 µm de long environ), digité, polysaccharidique (PAS positif) qui s'enfonce profondément dans le cytoplasme (photos 23 et 26), (FOUGÈRE-RIFOT et BOUARD, 1992 ; FOUGÈRE-RIFOT et *al.*, 1993b). L'appareil filiforme atteint environ la moitié de la hauteur des synergides tandis que leur pôle chalazien est occupé par une vacuole importante (photo 26).

Au pôle chalazien du sac embryonnaire, les trois antipodes logées dans leur étroit coecum sont dégénérescentes.

Tout le reste du sac est occupé par l'immense cellule centrale dont les noyaux polaires, diamétralement opposés, se déplacent dans des tractus cytoplasmiques (photo 24), se rapprochent dans la région médiane (photo 25) et s'accolent l'un à l'autre avant de fusionner. La caryogamie complète est un phénomène lent. Dans un premier temps, les nucléoplasmes fusionnent et les nucléoles restent séparés. Le noyau ainsi constitué se déplace vers la pointe chalazienne de l'oosphère (photo 27). Dans un deuxième temps, les nucléoles fusionnent et la caryogamie complète aboutit à un assez volumineux noyau secondaire. Parfois, le rapprochement et la fusion nucléaires prennent du retard et, à l'arrivée des tubes polliniques, la cellule centrale est encore binucléée.

18) Stade 18 : Allongement des tubes polliniques (photos 28, 30 et schéma 20, photos 31, 32, 34 et 35)

Le stigmate change de couleur, il passe du jaune clair au marron et même au marron très sombre. Il est formé de très nombreuses papilles, chacune étant constituée, comme au stade précédent, d'une file unisériée de cellules tanniques (photo 29).

De très nombreux tubes polliniques s'allongent à partir du stigmate (photos 34, 35), ils atteignent le style au niveau de la dépression centrale du stigmate vers laquelle ils convergent avant de parcourir la hauteur du style, tous regroupés dans la région axiale (photo 35). Il est tentant de penser que les tubes polliniques vont emprunter le canal stylaire délimité par les cellules épidermiques des bords carpellaires affrontés au moment de la fermeture du gynécée (stade 9). Mais, à l'époque de la pollinisation, le canal stylaire est parfois méconnaissable. La région axiale du style s'est élargie et est occupée par de petites cellules dont l'origine paraît être les cellules épidermiques parfaitement agencées qui bordaient ce canal avant la pollinisation et par celles du parenchyme de l'axe de l'ovaire. Ces cellules se sont plus ou moins séparées les unes des autres et forment un tissu lâche dont les lamelles moyennes se sont gélifiées. De ce fait, les cellules baignent dans un gel constitué de polysaccharides (PAS positif) et jouent le rôle de tissu de transmission. Ce tissu forme un cylindre qui occupe toute la partie axiale du style et dont le diamètre est d'environ 150 µm, soit le tiers du diamètre du style. Le gel polysaccharidique enrobe les papilles stigmatiques (photo 29), et s'étend jusqu'à la columelle.

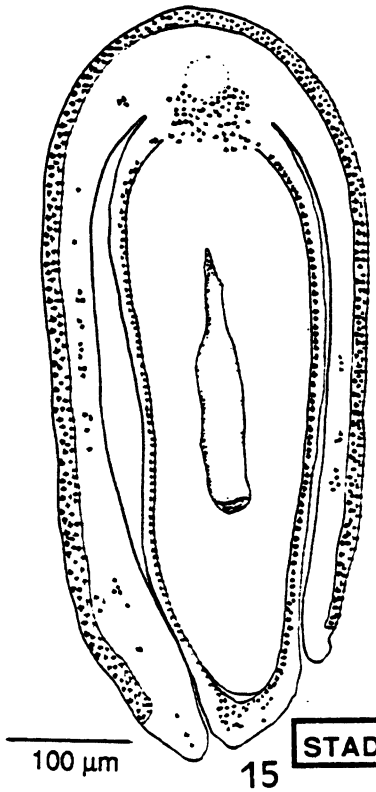
Après cette gélification, la région axiale du gynécée forme un tissu à cohésion réduite qui permet le passage de très nombreux tubes polliniques (photo28). Les tubes émergent de ce tissu au niveau de la rencontre de la columelle avec le placenta, c'est-à-dire au niveau où persiste un très étroit passage transversal qui maintient une communication entre les deux loges carpellaires. Cet interstice, en réalité oblique et symétrique par rapport à l'axe de l'ovaire, permet le cheminement de nombreux tubes polliniques vers chacune des loges (photo 31). En fait, il semble que toute la région columellaire soit parcourue par des tubes polliniques qui émergent dans les loges sur toute la hauteur de la columelle (photos 28, 31 et 32). Plusieurs tubes polliniques longent les épidermes externes des ovules et atteignent le micropyle formé par la rencontre des bords du tégument interne. En général, un seul tube pollinique s'engage dans le micropyle (photo 30 et schéma 20), mais, parfois, deux tubes sont présents dans cet étroit goulet.

Un tube pollinique parvient ainsi au sommet du nucelle (photo 30), s'immisce entre les cellules des calottes (photo 36), en suivant le tracé sinueux des lamelles moyennes (photo 33), et atteint le pôle micropylaire du sac embryonnaire sans avoir provoqué de lésions aux cellules rencontrées.

Pendant la croissance des tubes polliniques dans les tissus du gynécée, le gamétophyte poursuit son développement et se prépare à la fécondation.

19) Stade 19 : Fécondation (photo 36)

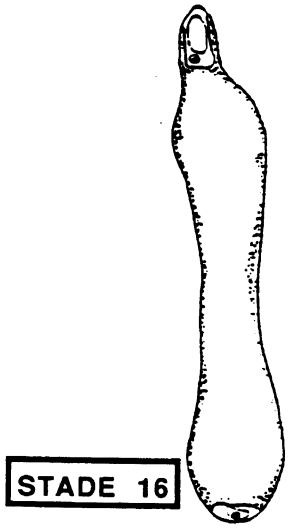
A l'époque de l'arrivée d'un tube pollinique dans le sac embryonnaire (photo 36), les deux synergides ont atteint le maximum de leur différenciation; en particulier, chacune a sécrété, au pôle micropylaire, un appareil filiforme très long et digité, fortement polysaccharidique (photos 23 et 26).



100 µm

15

STADE 16



STADE 16

16

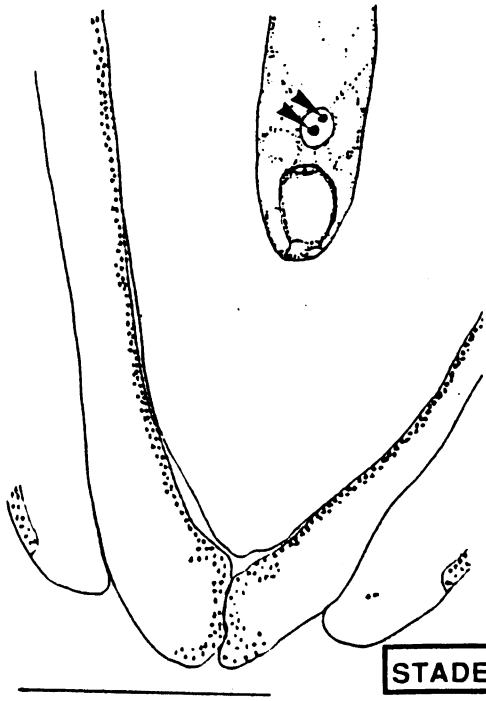
100 µm



17

100 µm

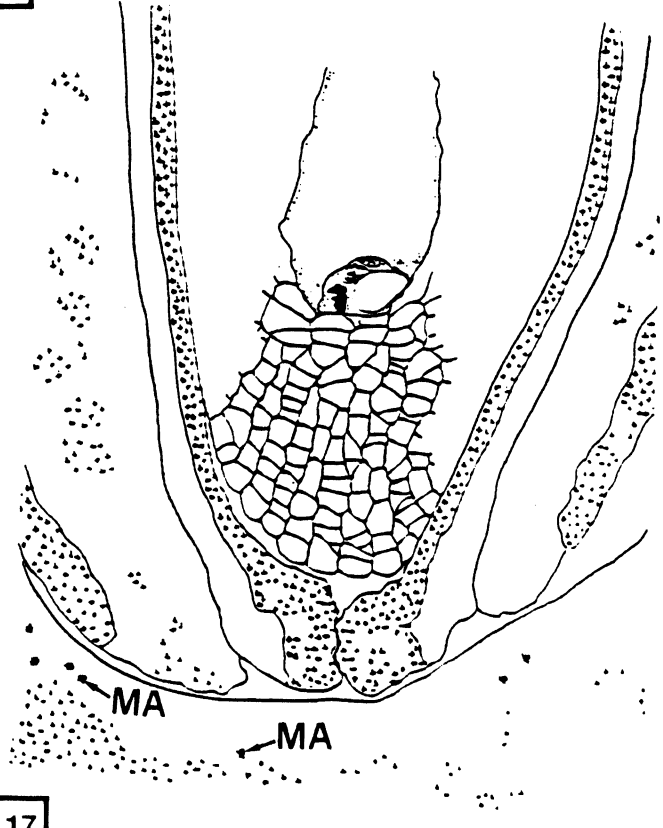
STADE 16



STADE 17

100 µm

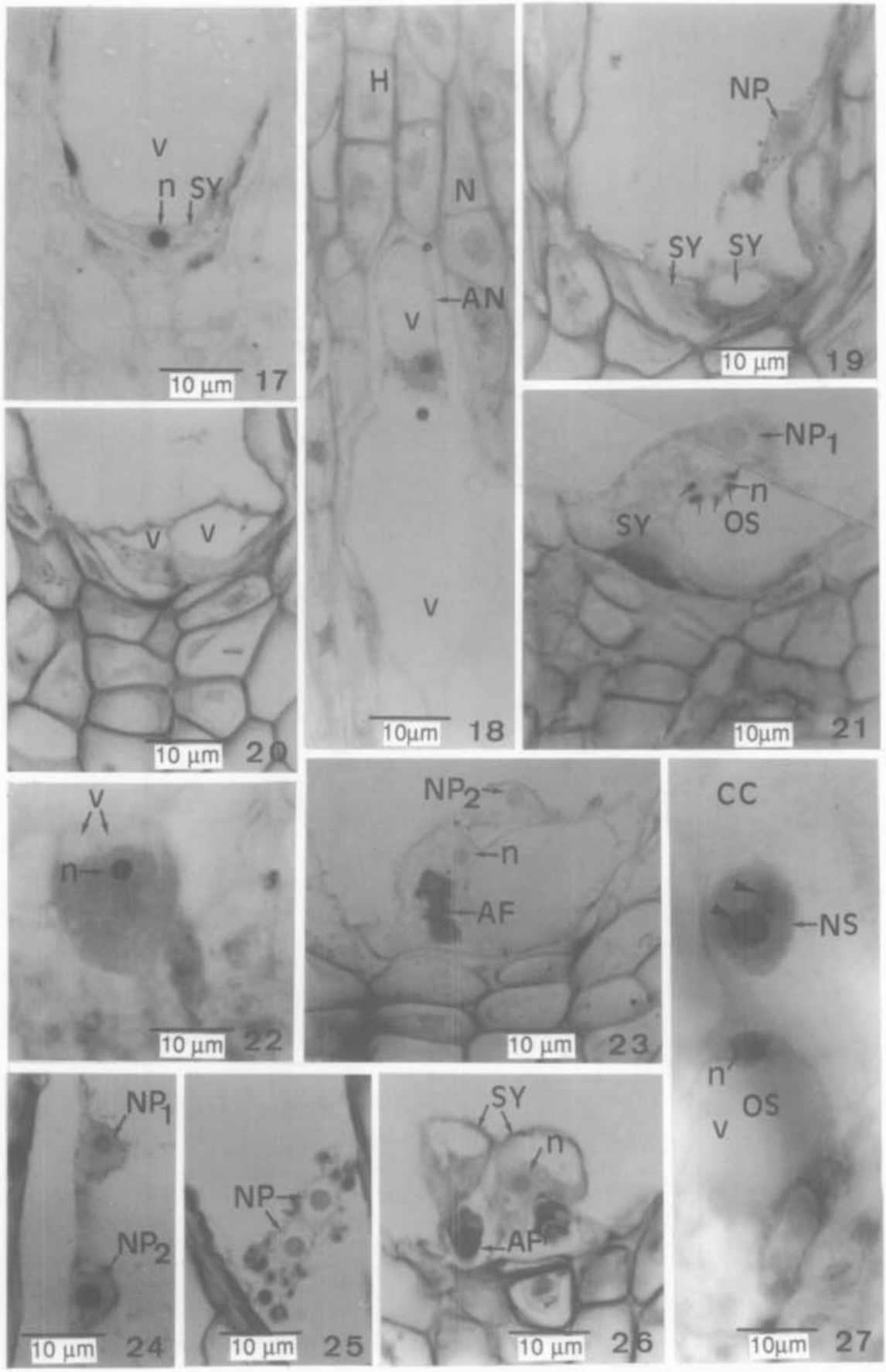
18

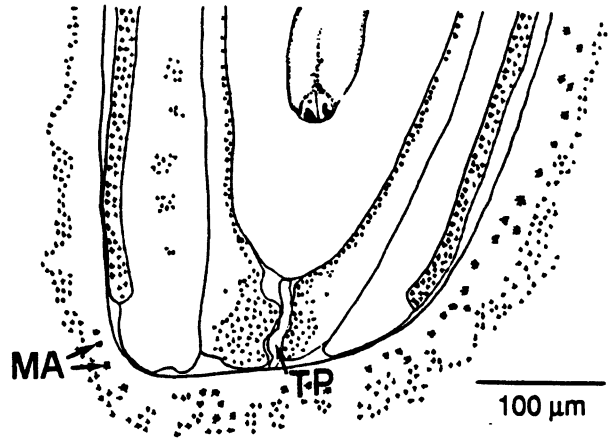


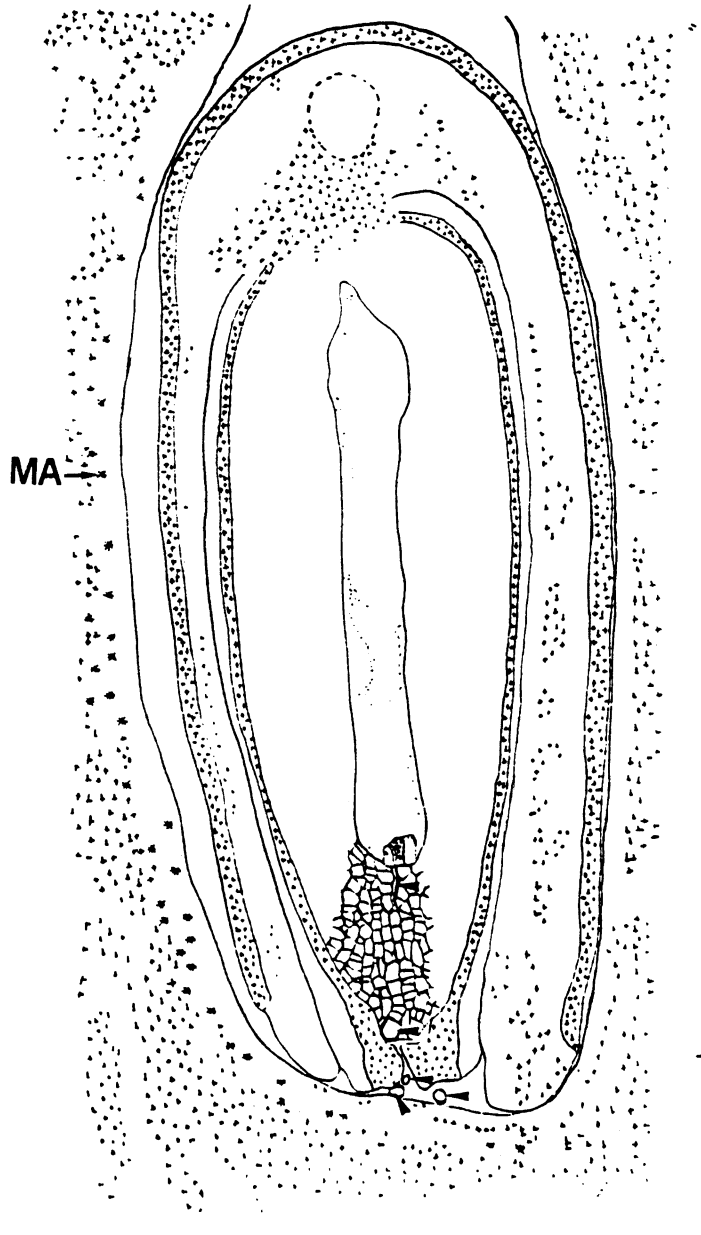
100 µm

19

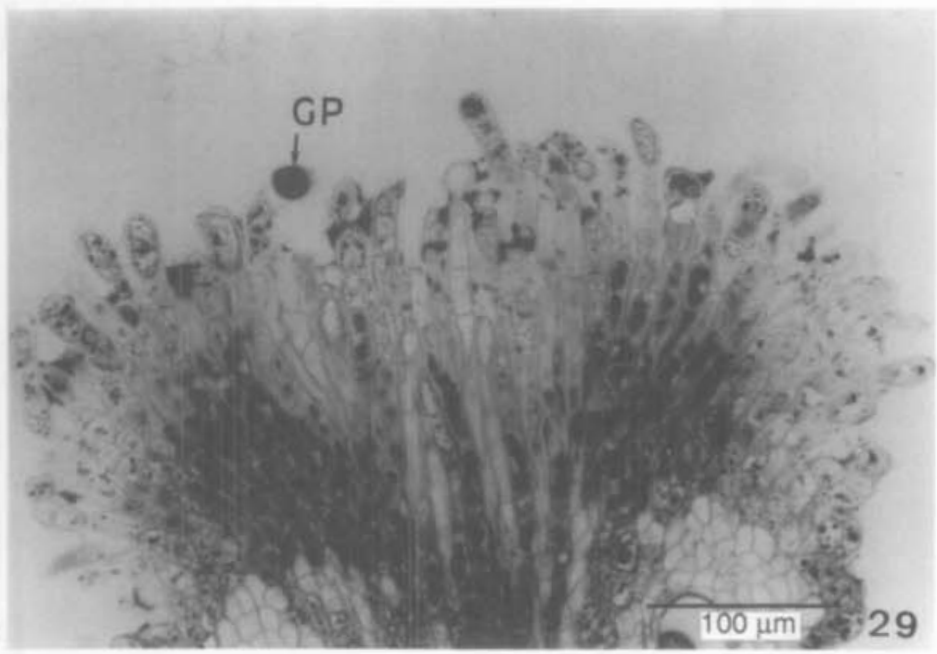
STADE 17

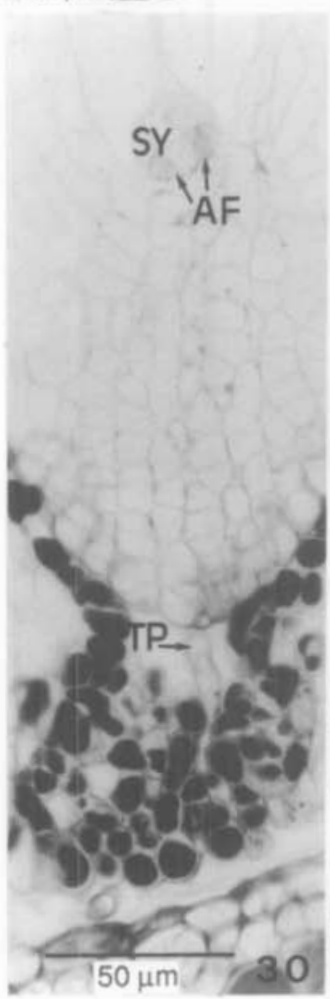

v
n
SY
10 µm
17
H
N
AN
v
10µm
18
NP
SY
SY
10 µm
19
v
v
10 µm
20
NP1
n
SY
OS
10µm
21
v
n
10 µm
22
NP2
n
AF
10 µm
23
CC
NS
n
OS
v
10µm
27
NP1
NP2
10 µm
24
NP
10 µm
25
SY
n
AF
10 µm
26


MA
T-P
100 µm
STADE 18
20

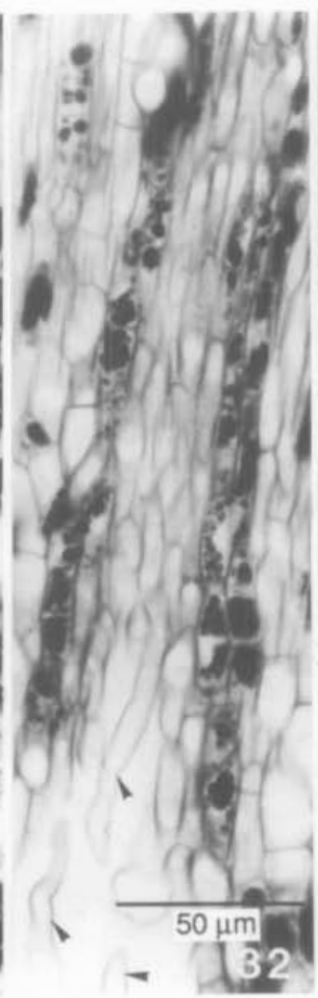

MA
100 µm
STADE 20
21

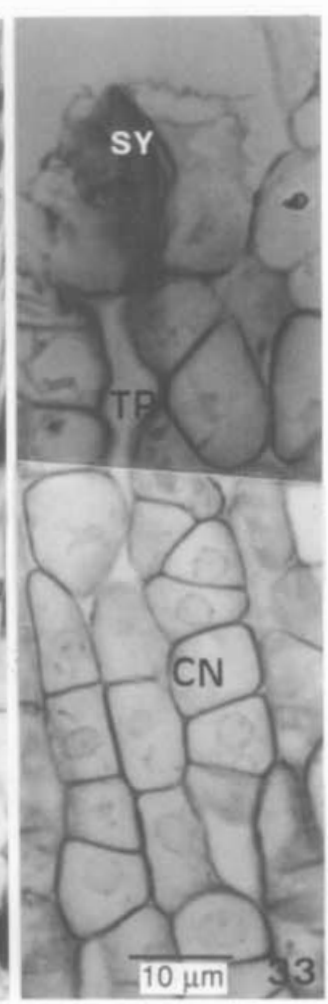

TP
50 µm
28

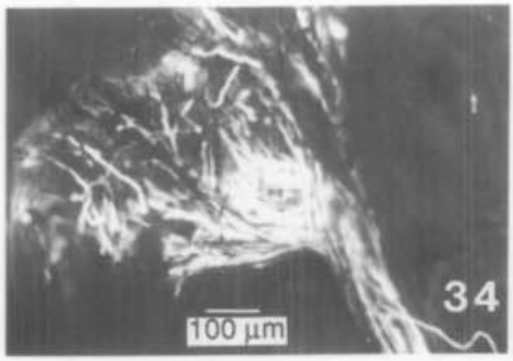

GP
100 µm
29

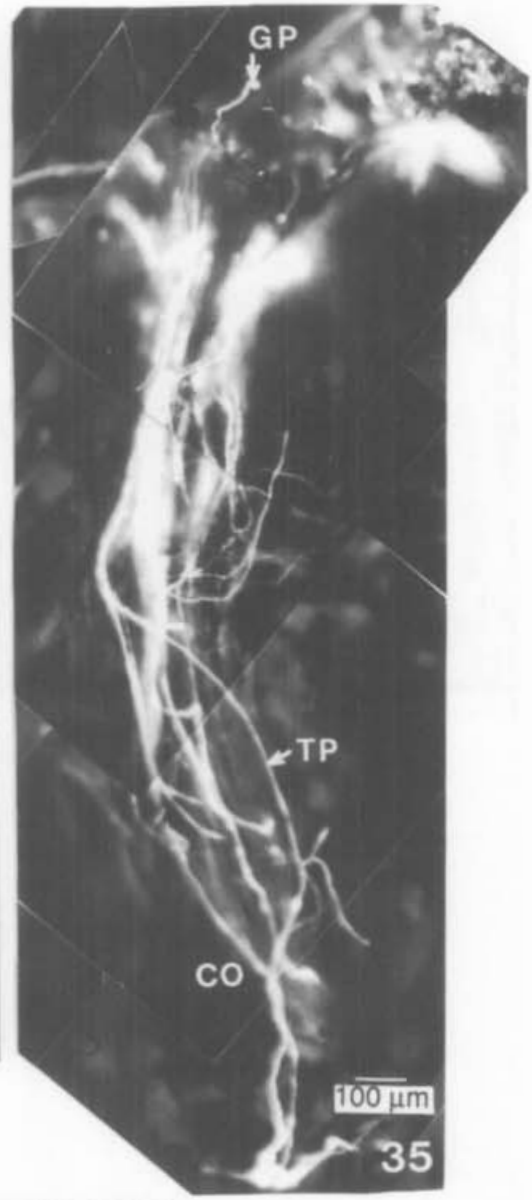

SY
AF
TP
50 µm
30

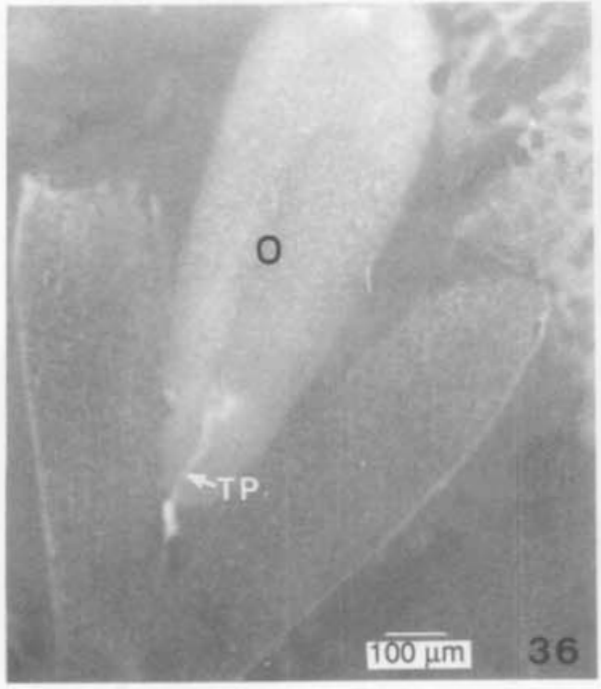

CO
O
O
F
100 µm
31

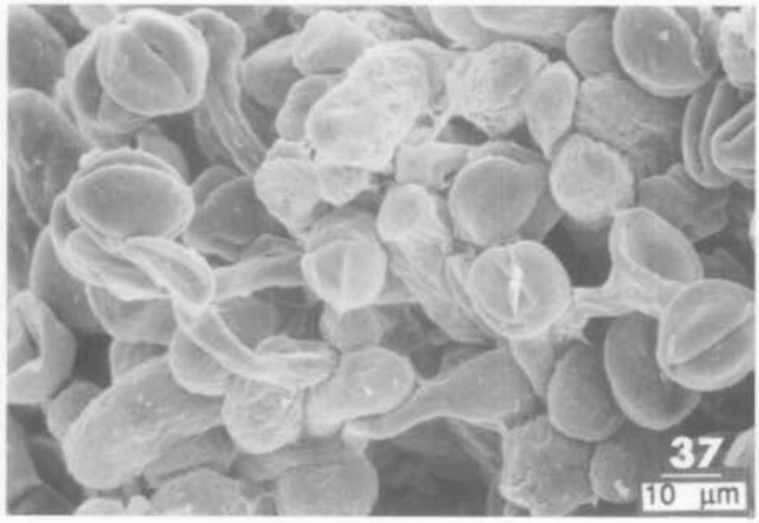

50 µm
32


SY
TP
CN
10 µm
33


34
100 µm


GP
TP
CO
100 µm
35


O
TP
100 µm
36


37
10 µm

Stade 16 : Formation du sac embryonnaire

Photo 17 - schéma 16 — Coupe longitudinale dans un ovule. Très jeune synergide au pôle micropylaire du sac embryonnaire.

Photo 18 - schéma 16 — Coupe longitudinale dans le même ovule que celui de la photo 17. Pôle chalazien du sac embryonnaire avec une très jeune antipode logée dans un coecum creusé dans le nucelle.

Photo 19 — Coupe longitudinale dans un ovule légèrement plus âgé. Au pôle micropylaire, les deux synergides sont présentes ainsi qu'un noyau polaire.

Photo 20 - schéma 15 — Coupe longitudinale dans le même ovule que celui de la photo 19. Les deux synergides ont acquis leur système vacuolaire caractéristique

Schéma 17 — Coupe longitudinale dans la partie micropylaire d'un sac embryonnaire (les trois cellules sont morphologiquement identiques)

Stade 17 : Maturité du sac embryonnaire, chute du capuchon et pollinisation

Photo 21 — Coupe longitudinale dans un ovule plus âgé; époque de la pollinisation. Au pôle micropylaire, la coupe ne passe pas par l'appareil filiforme. L'oosphère est caractéristique par sa très grande vacuole micropylaire; elle a de nombreux plastes amylifères (petites flèches) situés en périphérie du noyau. Un noyau polaire est présent, plaqué contre les sommets chalaziens de l'oosphère et de la synergide.

Photo 22 — Coupe longitudinale dans un ovule du même âge. Une synergide avec de grandes vacuoles, côté chalazien et son noyau en position centrale; l'appareil filiforme n'est pas visible sur la coupe.

Photo 23 - schéma 19 — Coupe longitudinale dans un ovule à l'époque de la pollinisation (le même que celui de la photo 21). Au pôle micropylaire, une synergide a formé un important appareil filiforme. Le deuxième noyau polaire est présent.

Photo 24 — Coupe longitudinale dans un ovule. Les deux noyaux polaires se rapprochent l'un de l'autre dans un film cytoplasmique, dans la région médiane de la cellule centrale.

Photo 25 — Coupe longitudinale dans un ovule. Les deux noyaux polaires sont accolés dans la région médiane du sac.

Photo 26 — Coupe longitudinale dans un ovule mûr juste avant la fécondation. Chaque synergide a construit un appareil filiforme.

Photo 27 - schéma 18 — Coupe longitudinale dans un ovule au moment de la caryogamie polaire. La coupe passe par l'oosphère et le noyau secondaire; la fusion polaire est inachevée (les deux nucléoles (têtes de flèches) sont visibles sur deux mises au point différentes).

Photo 29 — Stigmate à l'époque de la pollinisation.

Photo 37 — Microscopie électronique à balayage. Nombreux grains de pollen sur un stigmate. Certains ont commencé à germer.

Stade 18 : Allongement des tubes polliniques

Photo 28 — Coupe longitudinale dans la région axiale d'un ovaire. La région axiale entre les loges est occupée par un parenchyme lâche; la fente longitudinale de la columelle est reconnaissable. De très nombreux tubes polliniques sont présents au niveau de cette fente.

Photo 30 - schéma 20 — Coupe longitudinale au niveau du pôle micropylaire d'un ovule. Le sac embryonnaire est prêt pour la fécondation (en particulier, les appareils filiformes sont formés). Un tube pollinique est présent dans le canal micropylaire et atteint le sommet du nucelle.

Photo 31 — Coupe longitudinale dans la columelle d'un ovaire. De très nombreux tubes polliniques (petites têtes de flèches) sortent de la columelle, sont présents dans les loges carpellaires et atteignent les pôles micropylaires des ovules.

Photo 32 — Coupe longitudinale dans la columelle à un fort grossissement. Les tubes polliniques (petites têtes de flèches) s'échappent de la columelle.

Photo 34 — Écrasement d'un ovaire et observation en microscopie à fluorescence. Le stigmate est chargé de très nombreux grains de pollen germés.

Photo 35 — Écrasement d'un ovaire et observation en microscopie à fluorescence. De nombreux tubes polliniques parcourent la columelle.

Stade 19 : Fécondation

Photo 36 — Écrasement d'un ovaire et observation en microscopie à fluorescence. Un tube pollinique pénètre dans un ovule par son sommet micropylaire.

Stade 20 : Formation du zygote

Photo 33 - schéma 21 — Coupe longitudinale dans le pôle micropylaire d'un ovule après la fécondation. Un tube pollinique est encore présent entre les cellules de la calotte nucellaire et de très nombreuses autres sections encombrent la région micropylaire (petites têtes de flèches). Dans le sac embryonnaire, une synergide est déjà dégradée par le déchargement d'un tube pollinique. L'oosphère est devenue un zygote.

Sur tout le reste de leur périphérie, les parois des synergides ont été résorbées laissant les cellules limitées par leur seul plasmalemme.

L'oosphère fait nettement hernie dans la cellule centrale et son noyau est poussé vers la chalaze par la très grosse vacuole micropylaire. Elle n'a plus de paroi polysaccharidique.

Toute la région médiane du sac embryonnaire est occupée par la très longue cellule centrale. Le très gros noyau secondaire issu de la caryogamie polaire est situé à proximité du noyau de l'oosphère (photo 27).

Au pôle chalazien, les antipodes sont complètement dégradées; leur emplacement dans le coecum chalazien apparaît soit vide, soit occupé par des débris cellulaires.

Arrivé à cette étape du développement, le sac embryonnaire est prêt pour recevoir les deux spermies apportées par le tube pollinique.

20) Stade 20 : Formation du zygote (photo 33 et schéma 21)

Après la fécondation, le style et le stigmate se dessèchent, l'ovaire grossit et s'arrondit.

Dans le gamétophyte, les deux synergides dégénèrent. Le cytoplasme de la synergide traversée se nécrose (photo 33), perd son système vacuolaire et seul l'appareil filiforme demeure reconnaissable.

L'oosphère devenue zygote ne montre, chez le Chardonnay, aucune modification structurale.

La cellule centrale devenue cellule-albumen grandit, s'élargit en écrasant les cellules nucellaires et en occupant toute la place laissée libre par la dégénérescence des autres cellules du sac (antipodes et synergides).

CONCLUSIONS

Cette étude donne, pour la première fois, une description complète de l'ontogenèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var. Chardonnay. Elle apporte de nombreuses précisions et parmi les résultats nouveaux, il faut mentionner l'origine, la structure et le rôle de la columelle.

La columelle a une origine double formée par l'émergence, le long d'un diamètre de la base ovarienne, de deux demi-bourrelets placentaires qui grandissent à la rencontre des portions sommitales intériorisées de la paroi carpellaire.

L'ontogenèse de la columelle explique la présence d'un canal stylaire au niveau de l'affrontement des bords de la paroi carpellaire et l'existence d'une étroite communication entre les deux loges ovariennes, résultat de la rencontre, dans le plan médian de l'ovaire, de deux tissus d'origine différente.

Par la suite, le canal stylaire évolue et les cellules épidermiques qui le bordent s'organisent en un tissu de conduction, tissu lâche aux cellules séparées par des lamelles moyennes très gonflées.

Après la pollinisation, les tubes polliniques empruntent le tracé du tissu de conduction, puis le passage laissé libre entre les loges ovariennes et, en suivant les épidermes placentaire et ovulaire, atteignent le micropyle et assurent la fécondation.

De surcroît, la formation de vacuoles tanniques est suivie depuis les plus jeunes stades du bouton floral. L'importance de la présence de tanins vacuolaires, marqueurs de la vitalité des ovules, est mise en évidence, ainsi que l'absence totale de vacuoles tanniques dans les cellules du nucelle et du gamétophyte femelle.

Il est intéressant de signaler, enfin, qu'une telle étude a été menée également chez le Merlot et chez le Cabernet Sauvignon et que l'ontogenèse du gynécée de ces deux variétés est tout à fait comparable à celle du Chardonnay.

Manuscrit reçu le 30 mai 1995 ;
accepté pour publication le 5 septembre 1995

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

A : archéospore, AF : appareil filiforme, AN : antipode, C : carpelle, CC : cellule centrale, CE : calotte épidermique, CH : chalaze, CM : cellule mère des macrospores (= cellule sporogène), CN : calotte nucellaire, CO : columelle, CP : cellule pariétale, E : étamine, F : funicule, GP : grain de pollen, H : hypostase, LC : loge carpellaire, MA : cellule à macle d'oxalate de calcium, MF : macrospore fertile, N : nucelle, n : noyau cellulaire, NP, NP1, NP2 : noyau(x) polaire(s) de la cellule centrale, NS : noyau secondaire de la cellule centrale, O : ovule, OS : oosphère, P : pétale (=calyptra), PL : placenta, R : raphé, RA : cellule à raphides d'oxalate de calcium, S : sépale, SG : stigmate, ST : style, SY : synergide, TE : tégument externe de l'ovule, TI : tégument interne de l'ovule, TP : tube pollinique, V : vacuole, VT : cellule à vacuole tannique

Chronologie des 20 stades de l'ontogénèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var Chardonnay

Prélèvements de 1987 à 1994			*Vitis vinifera* L. var. Chardonnay									
			Ovaire					Ovule				
Stades	Dates	Stades repères de Baggiolini	Morphologie	Vascularisation		Localisation		Inclinaison et courbure	Téguments	Calottes	Évolution de la lignée fertile	Localisation des tanins et vascularisation
				Columelle	Paroi carpellaire	Oxalate de calcium	Tanins					
Stade 1 Méristème initial	avant 20 avril	F grappes visibles	non formé	—	—	—	—	non formé	—	—	—	—
Stade 2 Émergence des sépales	20 avril	F	idem	—	—	—	qq. rares vacuoles à tanins dans l'épiderme externe	idem	—	—	—	—
Stade 3 Émergence de la corolle (= calyptra)	20 - 23 avril	F	idem	—	—	—	idem	idem	—	—	—	—
Stade 4 Émergences des étamines	23 avril	F	idem	—	—	—	vacuoles à tanins dans l'épiderme des sépales et des pétales	idem	—	—	—	—
Stade 5 Émergences des carpelles	30 avril	F	ouvert	—	—	—	idem + qq. cellules du parenchyme de la calyptra	idem	—	—	—	—
Stade 6 Émergences des placentas Primordiums ovulaires	4 - 7 mai	F	idem	—	—	—	épiderme externe de la base des carpelles + qq. cellules du parenchyme carpellaire	dressé	non formés	non formées	—	—
Stade 7 Fermeture de l'ovaire	7 - 14 mai	F	fermé + style et stigmate peu différenciés	—	—	—	idem + qq. cellules dans la columelle	inclinaison 32°	idem	idem	—	—
Stade 8 Ovaire biloculaire à 4 ovules méristématiques Formation de la columelle	7 - 14 mai	G grappes séparées	idem + columelle en formation	—	—	—	idem	inclinaison 65°	idem	idem	—	—

Chronologie des 20 stades de l'ontogénèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var Chardonnay (suite)

Prélèvements de 1987 à 1994			*Vitis vinifera* L. var. Chardonnay									
			Ovaire					Ovule				
Stades	Dates	Stades repères de Baggiolini	Morphologie	Vascularisation		Localisation		Inclinaison et courbures	Téguments	Calottes	Évolution de la lignée fertile	Localisation des tanins et vascularisation
				Columelle	Paroi carpellaire	Oxalate de calcium	Tanins					
Stade 9 Ébauche du style et du stigmate Archéspore	14 mai	G	style court et stigmate différenciés	—	—	—	idem + qq. cellules de la paroi carpellaire	inclinaison 45° courbure 30°	première ébauche du tégument interne	idem	différenciation de l'archéspore	—
Stade 10 Allongement du style et du stigmate Mitose de l'archéspore	14 mai	G	idem	—	—	—	idem + cellules de l'épiderme du style + celllules terminales des papilles stigmatiques	idem	tégument interne court	cellule pariétale	cellule mère des macrospores	—
Stade 11 Cellule mère des macrospores Ébauche de la calotte nucellaire	14 mai	H boutons floraux séparés	idem	—	—	qq. cellules à raphides à la base du style	idem + style + papilles stigmatiques	inclinaison 30° courbure 105° développement du funicule	tégument interne court + tégument externe en formation	calotte nucellaire	idem	cellules de l'épiderme externe du funicule
Stade 12 Croissance de la cellule mère des macrospores Mise en place de la calotte épidermique	15 - 18 mai	H	style + stigmate à papilles bien différenciées formation des calottes ovulaires	vascularisée	vascularisée	raphides à la base du style et des carpelles macles sous l'épiderme interne des loges	idem	inclinaison 30° courbure environ 180°	allongement des téguments	calotte épidermique 1 - 4 épaisseurs de cellules + calotte nucellaire 4 - 5 épaisseurs de cellules	idem	idem + cellules de l'épiderme externe du tégument externe + cellules du parenchyme du funicule
Stade 13 Méiose de la cellule sporogène	20 mai	H	idem	idem	idem	idem	idem	inclinaison 10° courbure environ 180°	idem + micropyle non encore formé	calotte épidermique 4 épaisseurs de cellules + calotte nucellaire environ 13 épaisseurs de cellules	cellules mère des macrospores en méiose	idem + différenciation d'un faisceau vasculaire dans le funicule
Stade 14 Tétrade linéaire de macrospores	20 mai	H	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	4 macrospores	idem + vacuoles tanniques le long du faisceau vasculaire du funicule

Chronologie des 20 stades de l'ontogénèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var Chardonnay (suite)

Prélèvements de 1987 à 1994			*Vitis vinifera* L. var. Chardonnay									
			Ovaire					Ovule				
Stades	Dates	Stades repères de Baggiolini	Morphologie	Vascularisation		Localisation		Inclinaison et courbures	Téguments	Calottes	Évolution de la lignée fertile	Localisation des tanins et vascularisation
				Columelle	Paroi carpellaire	Oxalate de calcium	Tanins					
Stade 15 Macrospore fertile	25 mai	H	idem + invagination au niveau du stigmate	idem	idem	idem	idem	idem	formation du micropyle (ovule anattrope)	idem	croissance de la macrospore chalazienne fertile	idem + qq. cellules au niveau de la chalaze
Stade 16 Formation du sac embryonnaire	25 mai - 1er juin	H	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	les calottes sont comprimées par la formation du sac embryonnaire	sac embryonnaire (type *Polygonum*)	idem + cellules de l'épiderme interne du tégument interne
Stade 17 Maturité du sac embryonnaire Chute du capuchon Pollinisation	1er juin	I floraison	papilles stigmatiques très allongées avec grains de pollens à leurs sommets	idem	idem	idem + paroi carpellaire	idem	idem	idem	idem	idem + synergides avec appareil filiforme + dégénérescence des antipodes + rapprochement des noyaux polaires	idem
Stade 18 Allongement des tubes polliniques	10 juin	I	ovaire renflé + papilles stigmatiques desséchées + tubes polliniques, dans l'axe du style, dans fente columellaire, dans base des loges, dans micropyle	idem + nombreux tubes polliniques qui sortent de la columelle	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem + fusion polaire + parois intragamétophytiques résorbées	idem
Stade 19 Fécondation	10 juin	I	idem + tube pollinique atteint le sac embryonnaire	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem + synergide dégradée par tube pollinique	idem

Chronologie des 20 stades de l'ontogénèse du gynécée de *Vitis vinifera* L. var Chardonnay (suite)

Prélèvements de 1987 à 1994			*Vitis vinifera* L. var. Chardonnay									
			Ovaire					Ovule				
Stades	Dates	Stades repères de Baggiolini	Morphologie	Vascularisation		Localisation		Inclinaison et courbures	Téguments	Calottes	Évolution de la lignée fertile	Localisation des tanins et vascularisation
				Columelle	Paroi carpellaire	Oxalate de calcium	Tanins					
Stade 20 Fomation du zygote	après 10 juin	J nouaison	restes de tubes polliniques dans loges carpellaires	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	zygote + cellule - albumen	idem

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BAGGIOLINI M., 1952. Les stades repères dans le déroulement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Rev. Romande Agric. Vitic.*, **8**, 4-6.

BERNARD A.C. et C. CHALIES, 1986. Chronologie de la sporogenèse, dans le midi, chez *Vitis vinifera* L. *Prog. Agric. Vitic.*, **103**, n° 12, 311-317.

BERNARD A.C. et C. CHALIES, 1987. Chronologie de la sporogenèse dans le midi de la France. *Prog. Agric. Vitic.*, **104**, n° 15, 16, 343-354.

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° Congrès latino-américain de Viticulture et d'Œnologie*, Santiago du Chili, 20-25 novembre 1994, 250-257.

FOUGÈRE-RIFOT M. et J. BOUARD, 1992. Évolution de l'ovaire en rapport avec la coulure chez deux variétés de *Vitis vinifera* L. , le Merlot et le Chardonnay. *INRA-VITI 92, De la vigne au vin : les actualités de la recherche*, 22-26.

FOUGÈRE-RIFOT M., DELAVAUX J.J., BENHARBIT EL ALAMI N., BOUARD J. et O. BRUN, 1993a. Importance des tanins vacuolaires dans le développement des ovaires et des ovules de la vigne. *Vitis*, **32**, 127-136.

FOUGÈRE-RIFOT M., BENHARBIT EL ALAMI N., BRUN O. et J. BOUARD, 1993b. Relations entre le développement défectueux des ovaires et l'involution des ovules chez *Vitis vinifera* L. var. Chardonnay. *J. Int. Sc. Vigne Vin*, **27**, n°2, 99-112.

MAHESHWARI P., 1950. *An introduction to the embryology of angiosperms*. McGraw-Hill Book Company, 453p.

POSLUSZNY U. et J.M. GERRATH, 1986. The vegetative and floral development of the hybrid grape cultivar « Ventura ». *Can. J. Bot.*, **64**, 1620-1631.

PRATT C., 1971. Reproductive anatomy in cultivated grapes- a review. *Am. J. Enol. Vitic.* , **22**, n°2, 92-109.

SRINIVASAN C. et M. G. MULLINS, 1981. Physiology of flowering in the grapevine - a review. *Am. J. Enol. Vitic.*, **32**, n°1, 47-63.