DÉMONSTRATION D'UNE CORRÉLATION ENTRE JEUNES FEUILLES / APEX ET ÉBAUCHES DES GRAPPES PROPRE À UNE JEUNE BOUTURE AU DÉBUT DE SON DÉVELOPPEMENT

DEMONSTRATION OF A CORRELATION BETWEEN YOUNG LEAVES, APEX AND YOUNG BUNCHES SPECIFIC TO A YOUNG GRAPEVINE CUTTING IN THE FIRST PERIOD OF ITS DEVELOPMENT

J.C. FOURNIOUX

Institut Jules Guyot - Université de Bourgogne, B.P. 27877, 21078 Dijon cedex (France)

Résumé : Après la première phase de développement du jeune rameau d'une bouture de vigne, l'activité phyllogénétique du bourgeon terminal cesse presque totalement pendant environ 1 mois avant de se réactiver par la suite. Les effets de divers modes de défoliations appliqués à de jeunes boutures montrent que ce fort ralentissement de l'activité apicale est dû à une inhibition exercée par les jeunes feuilles sur l'apex. Ce contrôle de la phyllogenèse par les jeunes feuilles est spécifique de cette étape précise du développement caulinaire d'une bouture. La démonstration d'une relation étroite entre la croissance laminaire des feuilles et leur pouvoir inhibiteur sur l'activité apicale suggère un processus de compétition. Des apports exogènes de cytokinines ou un préenracinement des boutures avant le développement du bourgeon libèrent l'apex de la contrainte des jeunes feuilles. Cette contrainte réside donc dans une inhibition du bourgeon terminal par carence en cytokinines due à la conjugaison de deux faits : faible disponibilité des cytokinines consécutive à l'absence de racines qui sont les sites de synthèse et de production privilégiés de ces phytohormones d'une part et, pouvoir attractif dominant des jeunes feuilles en croissance vis-à-vis de ces cytokinines d'autre part. Ces résultats rapprochés des faits démontrés par MÜLLINS concernant la corrélation entre les jeunes feuilles et les jeunes ébauches de grappes sur une bouture de vigne permettent de dire que, chez une telle bouture encore non pourvue de toutes ses racines, les jeunes feuilles, l'apex et les ébauches de grappes sont en concurrence vis-à-vis des cytokinines avec l'ordre de préséance de leur pouvoir attractif suivant : jeunes feuilles>apex>ébauches de grappes.

Summary: The development of hardwood cutting of grapevine comprise 4 succesive phases. Phase I: first period of shoot extension. Phase II: characterized by a slow growth due to a very low activity of the terminal bud. Phase III: reactivation of the growth consecutive to a resumption of the apical activity. Phase IV: when the growth becomes maximal.

The objective of this work has been to identify the cause of the slowdown of the activity of apical bud during the phase II.

In a first experiment, we have compared the effects of three modes of defoliation applied from the beginning of the phase II on the apical activity: total defoliation, defoliation to have two adult leaves at the base of the shoot and defoliation to have two young leaves near the apex. The results of this experiment showed that only treatments depriving the shoot of young leaves induced an activation of the plastochronic activity. So, it appeared that young leaves exercises an inhibitory effect on the apex. The same experiment has been carried out during the phase IV of cuttings development, when the apical activity was maximal. In this condition, no treatments modified the apical activity. This suggests that the inhibition of the apex by young leaves is specific to the phase II of the development of a grapevine cutting. In a third experiment, we have demonstrated that the foliar inhibition persisted during the all period of the laminart growth. Cytokinins are probably implied in this competition because exogenous applications of these growth regulators during the phase II produced a stimulation of the activity of apical bud. Results of a last experiment showed that, in cuttings prerooted before budburst, the apical activity was not decreased after the phase I. In other words, in this condition, the growth of the shoot was regular without phase II. We explain this result as follows. The roots preformed on the cuttings produced cytokinins in sufficient quantity for provide for needs of both foliar growth and apical activity.

In previous studies, MÜLLINS showed that abortion of the young bunches on cuttings of grapevine was due to an inhibition by deficiency in cytokinins exercised by young leaves.The present work reveales the existence of an exactly similar correlation between the young leaves and the apex. So, in the beginning of the development of a grapevine cutting, young leaves, apical bud and young bunches are implied in a common correlative process which results on the one hand from a small avaibility of cytokinins due to the lack of roots and, on the other hand from a more efficient sink effect towards the cytokinins for the young leaves than for the apex and young bunches.

Mots clés : *Vitis vinifera*, bouture, bourgeon terminal, jeunes feuilles, corrélation
Key words: *Vitis vinifera*, cutting, apical bud, young leaves, correlation

Pour correspondance : jean-claude.fournioux@u-bourgogne.fr

J. Int. Sci. Vigne Vin, 2001, **35**, n°3, 117-127

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

INTRODUCTION

Comme BESSIS et ECEVIT (1974) l'ont décrit pour des plants de vigne cultivés en condition hydroponique, la croissance du rameau d'une bouture aoûtée en serre ou en pièce climatisée passe par quatre phases successives.

Phase I. Première période de croissance du bourgeon, d'une durée de 15 à 20 jours, classiquement considérée comme correspondant à l'étalement des parties préformées dans le bourgeon. À la fin de cette première phase, la pousse mesure de 6 à 8 cm de longueur et porte 5 à 6 feuilles en moyenne.

Phase II. Il y a alors une forte réduction de la vitesse de croissance due au fait que le rythme de surrection des feuilles au niveau du bourgeon terminal devient très faible. C'est pendant cette phase que les premières racines se forment. Sa durée est d'environ 1 mois.

Phase III. Elle correspond à une reprise de croissance du rameau et de l'activité phyllogénétique qui s'accélèrent progressivement.

Phase IV. Elle débute quand la vitesse de croissance caulinaire atteint sa valeur maximale pour des conditions de culture constantes et bien définies.

Parmi ces quatre phases, c'est la seconde qui détermine l'existence des trois autres par le ralentissement du développement caulinaire qui la caractérise. Aussi, cette étape particulière nous est-elle parue intéressante à étudier pour essayer de comprendre ce qui en détermine le principal caractère, à savoir la très faible activité organogène de l'apex. C'est à cela que nous nous sommes attachés dans ce travail.

Différents protocoles d'effeuillages nous permettent de démontrer que la forte diminution de l'activité apicale pendant la phase II de l'édification d'une bouture est due à une influence inhibitrice exercée par les jeunes feuilles sur le bourgeon terminal. Les similitudes entre cette influence foliaire et celle déjà décrite par MULLINS (1966, 1967, 1968) sur l'évolution des jeunes ébauches de grappes nous ont conduit à envisager l'existence d'un processus corrélatif intégrant à la fois les jeunes feuilles, l'apex et les ébauches inflorescentielles qui ne se manifesterait que pendant cette phase précise du développement caulinaire d'une bouture.

Des expériences complémentaires à celles mettant en œuvre des défoliations nous permettent de prouver la véracité de cette hypothèse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I - MATÉRIEL VÉGÉTAL

Cette étude a été réalisée sur le cépage Pinot noir. Des boutures à un œil sont confectionnées dans la partie moyenne de sarments prélevés l'hiver au vignoble (boutures d'environ 7 cm de longueur et d'un diamètre compris entre 8 et 11 mm).

II - CONDITIONS DE CULTURE

Les boutures sont cultivées dans des godets (section carrée 7 x 7 et 10 cm de hauteur) sur un mélange 50/50 de gravier siliceux (granulométrie 0/4) et de tourbe neutre. Elles sont arrosées par une solution nutritive dont nous avons déjà fourni la composition (FOURNIOUX, 1996a).

La pièce climatisée dans laquelle les expériences ont été effectuées était régulée de la façon suivante : température de 26 °C / jour et 22 °C/nuit avec des écarts thermiques n'excédant pas 2°C ; énergie lumineuse de 100 µmol mol^{-1} fournie par des tubes fluorescents (Philips TL 33, blanc industrie) ; photopériode de 16 h jour / 8 h nuit ; hygrométrie maintenue à 80 % par un humidificateur DEFENSOR 505, connecté à une sonde.

III - PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

1) Expérience n°1

Dans cette première expérience, trois modes de défoliations sont appliqués dès le début de la phase II du développement caulinaire que nous pouvons déterminer grâce à un suivi régulier de l'élongation de la pousse et du nombre de feuilles développées à partir du débourrement de l'oeil des boutures. Nous désignons ces trois modalités d'effeuillage respectivement par les abréviations « E.tot », « E.j. » et « E.ad. ». Le traitement « E.tot. » (effeuillage total) consiste en une défoliation complète et régulière par l'ablation renouvelée (deux fois par semaine) des jeunes ébauches foliaires dès leur séparation de l'apex. Dans la modalité « E.j. » (effeuillage épargnant des feuilles jeunes), la pousse est entretenue dans un état de défoliation tel qu'elle ne conserve que les deux dernières feuilles jeunes situées sous le bourgeon terminal. Le traitement « E.ad. » (effeuillage épargnant des feuilles adultes) est une défoliation régulière au-dessus de deux feuilles adultes choisies parmi les premières déployées à la base du rameau. Outre les effeuillages appliqués aux pousses des boutures de ces trois lots expérimentaux, nous pratiquons également une destruction systématique des bourgeons anticipés dès qu'ils entament une croissance. Les développements d'entre-cœurs étant particulièrement abondants sur les boutures traitées selon les modalités « E.tot. » et « E.ad. », une vigilance toute

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

particulière est apportée à l'entretien de ces lots. Un quatrième lot non effeuillé constitue le témoin.

Les effets de ces traitements sur le développement caulinaire sont appréciés par une mesure régulière de la longueur des pousses et un comptage de leurs feuilles jusqu'à ce que les boutures du lot témoin aient atteint la phase IV de leur développement.

Au terme de l'expérience, nous analysons les conséquences de ces effeuillages sur l'enracinement des boutures. Pour cela, elles sont soigneusement déplantées de façon à respecter au mieux leur système racinaire. La qualité de l'enracinement est appréciée par un comptage des racines adventives émises par chaque bouture et par la mesure du poids frais moyen des racines.

2) Expérience n°2

Les trois traitements effeuillages décrits au paragraphe précédent sont appliqués à des boutures étant parvenues à la phase IV de leur développement caulinaire. 30 boutures non effeuillées servent à nouveau de lot témoin. Nous n'avons, pour cette expérience, envisagé que les effets des défoliations sur l'activité organogène foliaire apicale en dénombrant régulièrement les feuilles nouvellement formées.

3) Expérience n°3

Pour cette expérience, des boutures sont élevées jusqu'à ce que la fin de la phase I soit dépassée d'une dizaine de jours sachant qu'alors, une feuille au moins a atteint sa taille adulte. Ces boutures sont alors réparties en 4 lots.

- lot A : traitement « E.tot. » tel que nous l'avons décrit plus haut.

- lot B : traitement « E.ad / 1 feuille », c'est-à-dire enlèvement de toutes les feuilles à l'exception d'une seule choisie parmi celles qui ont achevé leur croissance caulinaire. Ses dimensions moyennes sont de 48 ± 4 mm de longueur (longueur de la nervure médiane) pour 54 ± 5 mm de largeur (distance entre l'extrémité des deux lobes latéraux adjacents au lobe médian).

- lot C : effeuillage régulier des pousses, mais cette fois c'est au contraire la plus petite feuille insérée sous l'apex, au jour du premier effeuillage, qui est épargnée. Elle mesure 15 ± 2 mm de longueur sur 18 ± 3 mm de largeur.

- lot D : l'unique feuille conservée sur le rameau est de dimensions intermédiaires à celles des lots B et C : longueur de 32 ± 4 mm et largeur de 36 ± 3 mm. Elle est insérée aux 3e ou 4e nœuds sous l'apex.

Le suivi de cette expérience consiste à analyser les effets de ces traitements sur l'activité phyllogénétique apicale en relation avec la croissance de la feuille épargnée chez les lots B, C et D. Ainsi, sur tous les lots, les nouvelles feuilles formées à partir de la première défoliation sont détachées et comptées. Sur les lots B, C et D, nous suivons, en même temps, la croissance de la feuille épargnée par une mesure régulière de sa largeur.

d) Expérience n°4

Son objectif est d'étudier les effets d'apports exogènes de cytokinines sur l'activité phyllogénétique du bourgeon terminal pendant la phase II. Deux molécules ont été étudiées : la 6-BAP (6- Benzylaminopurine) et l'i-P (6 - (gg-Diméthylallylamino)-purine)ou N6 (D2-isopenténylladénine) aux concentrations de 0,001 (10-6) et 0,01 (10-5) gl^{-1}. Après avoir testé différents procédés d'apports de ces phytohormones, le seul qui se soit avéré efficace consiste à placer la solution hormonée dans un tube en plastique emmanché dans la partie du mérithalle qui surplombe le bourgeon. Cette partie supérieure de la bouture est coupée initialement avec une longueur suffisamment importante pour que l'on puisse ensuite rafraîchir régulièrement la section pendant toute la durée de l'expérience, en même temps que les solutions sont renouvelées (tous les deux ou trois jours).

e) Expérience n°5

L'objectif de cette dernière expérience est d'analyser les caractères du développement caulinaire de boutures préenracinées avant le débourrement du bourgeon. Nos essais de préenracinement de boutures de Pinot noir selon la méthode de MULLINS (1967) ayant été infructueux, pour disposer de telles boutures, nous avons réalisé des marcottes aériennes en procédant comme suit.

La première opération, que nous qualifierons de « marcottage aérien » est réalisée au vignoble. Avant le débourrement, les mérithalles les plus longs des baguettes de nombreux ceps sont enveloppés de tourbe humide enfermée dans un manchon de toile fine à mailles lâches doublé d'un film plastique finement perforé. Le tout est étroitement maintenu autour du bois par plusieurs liens. Ces « marcottes » sont régulièrement surveillées, d'une part pour maintenir une bonne humection permanente de la tourbe, d'autre part pour observer l'émergence des premières racines. Celle-ci est obtenue assez rapidement. 5 semaines environ après la mise en place des manchons, presque tous montrent déjà un assez grand nombre de racines qui, ayant traversé l'épaisseur de tourbe, apparaissent sous le film plastique externe. Entre temps, les bourgeons latents,

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

entrés en croissance, ont produit des pousses de 15 à 25 cm de long que nous sectionnons au niveau de leur entre-nœud inférieur. Nous récoltons soigneusement les baguettes qui, pour plus de commodité de cette opération, n'avaient pas été attachées au palissage habituel.

Rapportées au laboratoire, nous confectionnons, à partir de ce matériel, des boutures constituées d'un nœud supérieur pourvu d'au moins 1 ou 2 « contre-bourgeons » du latent principal et du mérithalle sous jacent (d'une longueur d'environ 10 cm) enveloppé de son manchon de tourbe que nous maintenons ; seul le film plastique est enlevé. Nous disposons ainsi, par cet artifice, de boutures de Pinot noir parfaitement enracinées. Des boutures témoins de même configuration gemmaire sont réalisées à partir de baguettes non « marcottées ».

30 boutures de chaque sorte (préenracinées ou non) ont ainsi été plantées en pots sur le mélange tourbe / sable et arrosées de solution nutritive. Dès le débourrement, nous procédons à un ébourgeonnage minutieux tel que chaque plant ne conserve qu'un œil en croissance. L'activité phyllogénique de la pousse produite par ce bourgeon unique est alors suivie par un comptage bihebdomadaire des feuilles.

IV - MÉTHODOLOGIES EXPÉRIMENTALES

Pour chacune des expériences décrites ci-dessus, chaque lot est constitué de 30 boutures soigneusement sélectionnées. Dans tous les cas, pour un lot déterminé, 45 boutures sont initialement mises en culture de façon à ce que l'on puisse, par un tri judicieux, le jour de la mise en place de l'essai, constituer un lot parfaitement homogène dans lequel toutes les boutures sont dans le même état de développement.

RÉSULTATS

I - EFFETS DES DIVERS MODES D'EFFEUILLAGE APPLIQUÉS DÈS LA FIN DE LA PHASE I SUR LE DÉVELOPPEMENT D'UNE BOUTURE (EXPÉRIENCE N°1)

1) Effets sur le développement caulinaire

Les ablations foliaires modifient profondément les caractères du développement des pousses par rapport au témoin (figure 1). Les effets sont fonction du traitement, mais ils évoluent aussi dans le temps. Cette évolution coïncidant assez parfaitement avec les phases successives de la croissance des boutures du lot témoin, il sera plus aisé de se référer à ces phases pour décrire les faits observés sur les lots effeuillés.

Phase II. Les traitements « E.tot. » et « E.ad. » conduisent tous deux à une très nette accélération du rythme de formation des feuilles (figure 1b) ; réponse immédiate pour l'effeuillage total, un peu différée pour le traitement « E.ad. ». La vitesse de croissance s'en trouve augmentée, mais dans une moindre mesure que le rythme plastochronique (figure 1a). Le plus grand allongement général des pousses dû à l'élaboration d'un nombre plus élevé de mérithalles dans un temps donné est fortement contrarié par l'amoindrissement de l'élongation internodale, conséquence de l'enlèvement des jeunes feuilles (FOURNIOUX, 1996b). Le traitement « E.j. » ne change rien, pendant cette phase, aux caractères de la croissance et de l'activité

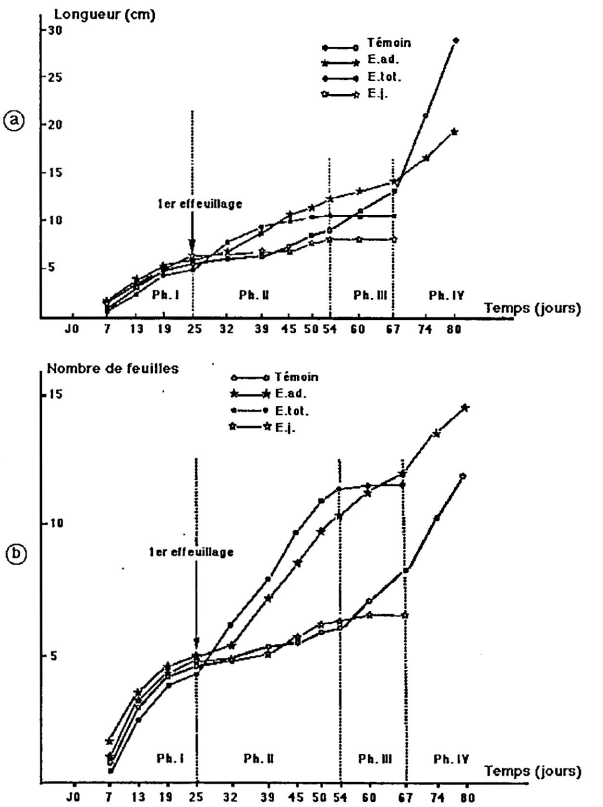

Fig. 1 - Effets de 3 modes de défoliations sur le développement de la pousse d'une bouture.

E.tot. : effeuillage total entretenu ; E.ad. : effeuillage régulier au-dessus de deux feuilles adultes maintenues à la base ; E.j. : effeuillage régulier épargnant deux feuilles jeunes sous l'apex.

Fig. 1a : Longueur moyenne cumulée, en fonction du temps, des rameaux effeuillés et de ceux du lot témoin. Fig. 1b : Nombre moyen cumulé de feuilles formées en fonction du temps. J0 : date de constitution des lots. PhI, II, III et IV : 4 phases successives du développement caulinaire chez le lot témoin telles qu'elles sont décrites dans le texte.

Fig. 1 - Effects of the 3 defoliation treatments on the shoot development of cuttings.

E.tot.: total defoliation, E.ad.: defoliation to have two adult leaves at the base of the shoot, E.j.: defoliation to have two young leaves near the apex. Fig 1a: Mean lenght of defoliated and non-defoliated (control) shoots as a function of time. Fig. 1b: Mean number of leaves as a function of time. J0: first day of experiment. Ph I, II, III and IV: 4 successive phases of the shoot development in the control as described in the text.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

organogène apicale qui restent égales à celles du témoin (figures 1a et 1b).

Phase III. À J0 + 54 jours, date de la fin de la phase II, la croissance des pousses traitées selon les modalités « E.tot. » et « E.j. » cesse (figure 1a) du fait de l'arrêt de l'activité organogène apicale (figure 1b). Précisons que, chez ces deux lots, l'apex meurt très vite après cet arrêt de son activité et que, en quelques jours, c'est toute la pousse dégarnie de ses feuilles qui se dessèche. En ce qui concerne le lot « E.ad. », les vitesses de l'élongation et des initiations foliaires restent, pendant cette phase, sensiblement égales à ce qu'elles étaient pendant la phase II.

Phase IV. Elle commence à J0 + 67 jours chez le témoin. Parmi les lots effeuillés, seul celui traité sur le mode « E.ad. » y parvient (figure 1). On note alors une légère accélération de la vitesse de croissance et du rythme plastochronique qui, malgré tout, restent inférieurs au témoin.

2) Effets sur la rhizogenèse

La comparaison de l'état d'enracinement des boutures en fin d'expérience (figure 2) montre que le traitement « E.ad. » qui préserve deux feuilles adultes sur les boutures n'a un effet que légèrement dépressif sur le nombre et le poids moyens de racines par bouture. Par contre, avec les traitements « E.tot.» et « E.j. », l'enracinement est très fortement diminué.

Il ressort de cette première expérience que les défoliations qui suppriment les feuilles jeunes (« E.tot. » et « E.ad. ») conduisent à une élévation de l'activité organogène apicale pendant la phase II alors que le traitement « E.j. » qui épargne cette catégorie de feuilles ne modifie pas les caractères de cette activité phyllogénétique par rapport au témoin non effeuillé pendant cette même phase.

Il apparaît en outre que les effets des différents modes d'effeuillage sur le rythme des initiations foliaires au cours de la phase II ne peuvent être mis en relation avec les conséquences de ces traitements sur la rhizogenèse. En effet, une accélération du rythme plastochtonique d'égale intensité est obtenue avec les effeuillages E.tot et E.ad. alors même qu'ils ont des effets très différents sur la genèse des racines adventives. De la même façon, l'activité organogène très faible commune aux lots E.j. et témoin ne peut être

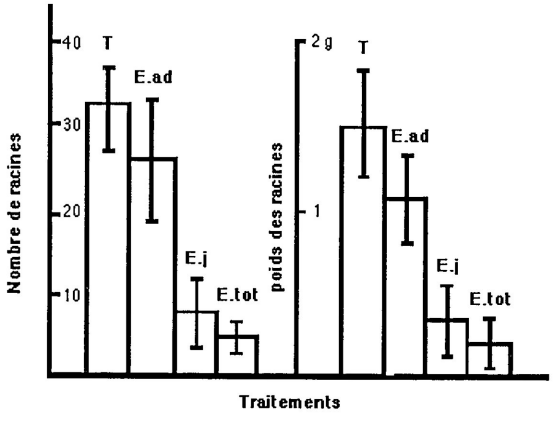

Fig. 2 - Effets des traitements E.tot., E.ad. et E.j. (voir légende de la figure 1) sur la rhizogenèse.
État final d'enracinement des boutures effeuillées par rapport au témoin T. Les barres verticales indiquent les écarts types.

Fig. 2 - Effects of treatments E.tot., E.ad. and E.j. (see legend of fig. 1), on the rhizogenesis.
State of rooting of defoliated cuttings compared to the control at the end of the experiment. Standard deviations are given by vertical bars.

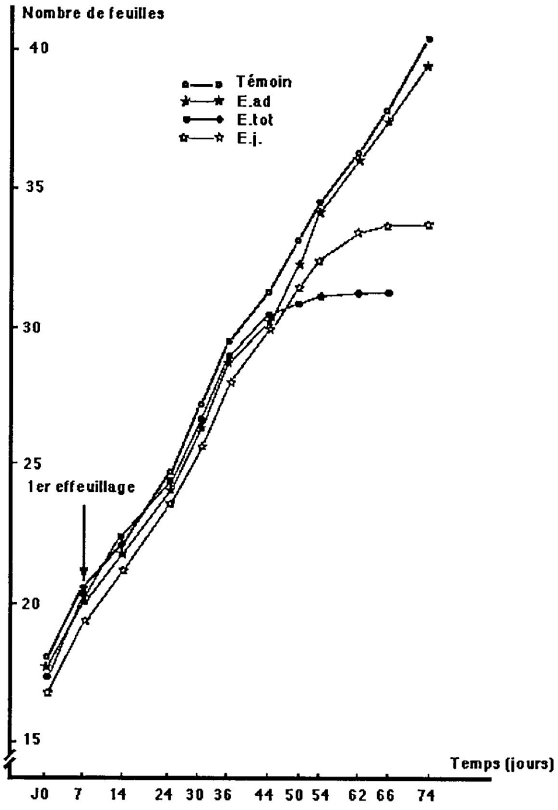

Fig. 3 - Effets des trois modes de défoliation E.tot., E.ad. et E.j. (voir légende de la figure 1) appliqués au rameau d'une bouture parvenu à la phase IV de son développement sur l'activité organogène foliaire de l'apex (nombre moyen cumulé de feuilles formées en fonction du temps).

Fig. 3 - Effects of the 3 defoliation treatments E.tot., E.ad. and E.j. (see legend of fig 1), applied on the shoot of cuttings during the phase IV of their development, on the activity of apical bud (mean number of leaves as a function of time).

J. Int. Sci. Vigne Vin, 2001, **35**, n°3, 117-127
©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

reliée à l'état d'enracinement des boutures profondément différent chez ces deux lots.

La confrontation de ces deux ensembles de résultats permet déjà d'avancer l'idée selon laquelle la faible activité phyllogénétique terminale qui caractérise la phase II de développement du rameau d'une bouture serait due à une influence « inhibitrice » des feuilles jeunes.

II - EFFETS DE CES MÊMES MODES D'EFFEUILLAGE SUR L'ACTIVITÉ APICALE DU RAMEAU D'UNE BOUTURE PENDANT LA PHASE IV - (EXPÉRIENCE N°2)

Comme en témoignent les courbes de la figure 3, parvenue à ce stade du développement caulinaire, l'activité organogène foliaire du méristème terminal a acquis une relative autonomie vis-à-vis des influences foliaires. Quel que soit le mode d'effeuillage, pendant les 35 jours qui suivent le début de leur application, l'activité apicale reste égale à celle des rameaux du lot témoin. Les effets des traitements « E.tot. » et « E.ad. » montrent qu'il n'y a en particulier plus trace de la contrainte exercée par les jeunes feuilles pendant la phase II. Sur le plan des corrélations feuilles / activité apicale, la situation est très comparable à celle que nous avions démontrée pour une pousse sur un cep (FOURNIOUX et BESSIS, 1980).

L'arrêt de fonctionnement du bourgeon terminal chez les pousses traitées selon les modalités « E.tot. » et « E.j. » après 35 à 40 jours de traitement est dû, vérification faite, à la mort des racines sur ces boutures effeuillées de manière aussi drastique. Il ne s'agit donc, en aucun cas d'une influence directe de ces défoliations, mais d'une conséquence indirecte de ces effeuillages sur le devenir des racines.

Ces nouveaux résultats indiquent que le contrôle de l'activité méristématique apicale par les jeunes feuilles en croissance est un processus corrélatif spécifique à la 2e phase du développement caulinaire sur une bouture de vigne.

III - MISE EN ÉVIDENCE DE LA RELATION ENTRE LA CROISSANCE D'UNE FEUILLE ET SON EFFET INHIBITEUR SUR LE RYTHME DE SURRECTION DES NOUVELLES ÉBAUCHES PENDANT LA PHASE II (EXPÉRIENCE N°3)

Le fait que les feuilles jeunes contrôlent l'activité du bourgeon terminal pendant la seconde phase de développement d'une bouture suggère une relation entre la croissance foliaire et ce pouvoir inhibiteur. C'est cette réflexion qui nous a inspiré cette expérience dont les résultats sont éloquents.

Par comparaison avec les lots A et B (figure 4a) chez lesquels la réponse aux effeuillages ne se fait pas attendre, pour les lots C (figure 4b) et D (figure 4c), il y a un temps de latence avant activation de l'apex dont la durée est en relation étroite avec celle de la fin de l'accroissement de l'unique feuille épargnée.

Il est clair, au vu de ces résultats, que pendant la phase II, une activité organogène apicale soutenue est incompatible avec une activité de croissance foliaire et ce, jusqu'au terme de cette phase.

À ce stade de l'exposé de nos résultats, on ne peut qu'être frappé des similitudes entre les caractères de la contrainte que subit l'apex de la part des jeunes feuilles en croissance avec ceux démontrés par MULLINS (1966, 1967, 1968 et RAJASEKARAN, 1981) pour une autre corrélation qui implique les jeunes feuilles et les jeunes ébauches de grappes d'une bouture de vigne. L'identicité des organes « inhibiteurs », à savoir les feuilles jeunes, est le premier point évidemment remarquable. Le second réside dans le fait que la corrélation qui relie les jeunes feuilles et les jeunes grappes résulte d'une compétition. MULLINS (1968) reprend, pour qualifier cette corrélation compétitive, l'expression « d'inhibition par carence » créée par CHAMPAGNAT (1968). La relation très étroite constatée ici entre la croissance laminaire foliaire et le pouvoir inhibiteur sur l'activité apicale suggère beaucoup plus un processus compétitif qu'une inhibition corrélative au sens strict. Ces deux corrélations pourraient ainsi n'être que la manifestation d'une seule et même influence négative exercée par les feuilles en croissance à la fois sur les très jeunes inflorescences et sur le bourgeon terminal. La réalité de ce modèle est subordonnée à la démonstration de deux derniers points de convergence entre les corrélations « feuilles jeunes / inflorescences » et « feuilles jeunes / apex » : i/ facteur limitant de l'activité apicale identique à celui nécessaire au bon développement des ébauches des grappes à savoir des cytokinines (MULLINS, 1967, 1986), ii/ rôle essentiel des racines pour la stimulation de l'activité apicale comme c'est le cas pour l'évolution des inflorescences (MULLINS, 1967, 1968 et RAJASEKARAN, 1981).

IV - EFFETS D'APPORTS EXOGÈNES DE CYTOKININES SUR L'ACTIVITÉ DU BOURGEON TERMINAL PENDANT LA PHASE II (EXPÉRIENCE N°4).

Les courbes de la figure 5 permettent de comparer l'activité organogène du bourgeon apical des boutures enrichies en cytokinines par rapport à celle d'un lot témoin pour lequel les solutions hormonées sont remplacées par de l'eau distillée.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

Dans la première phase d'extension de la pousse, le rythme de surrection des feuilles n'est pas modifié. C'est pendant la phase II que l'on constate un effet positif de la 6-BAP et de l'iP sur le rythme de surrection des feuilles.

Avec la 6-BAP, la stimulation est beaucoup plus importante à la concentration la plus élevée (10^{-5}). En ce qui concerne l'iP, elle est d'égale intensité pour les deux teneurs étudiées, comparable à celle obtenue avec la 6-BAP à 0,01 gl-1 (10^{-5}). À l'exception des boutures traitées par l'iP à la concentration 10^{-6}, pour les autres traitements efficaces pendant la majeure partie de la phase II, vers la fin de cette phase, le fonctionnement apical se ralentit fortement, puis cesse totalement au moment où, chez les boutures témoins, la phyllogenèse est réactivée (phase III). L'apex de ces boutures reste ainsi bloqué pendant quelques jours, puis dépérit. Cet effet négatif ne s'observe pas chez le lot de boutures traitées à l'iP à 10^{-6}. Non seulement le bourgeon terminal survit au traitement mais, de plus, son activité phyllogénétique se poursuit avec un rythme égal à celui

Figure 4

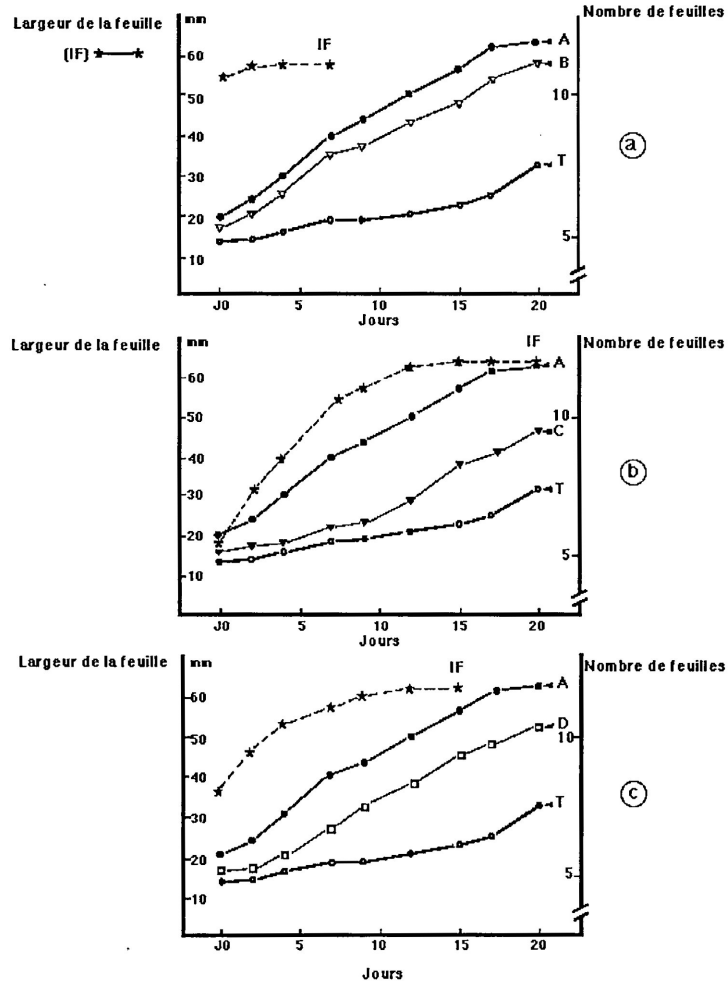

Fig. 4 - Mise en évidence de la relation entre la croissance d'une feuille et le rythme de surrection des nouvelles ébauches sur la pousse d'une bouture pendant la phase II.

Courbes B (fig-a), C (fig-b) et D (fig-c) : nombre moyen cumulé de feuilles formées, en fonction du temps, par l'apex de pousses privées, à compter du jour J0, de toutes leurs feuilles à l'exclusion d'une seule de dimensions variables. (fig-a , lot B : feuille adulte ; fig-b, lot C : plus petite feuille sous l'apex ; fig-c, lot D : feuille de dimensions intermédiaires) ; courbes IF : accroissement moyen cumulé en largeur, en fonction du temps à partir du jour J0, de la feuille épargnée. Courbes A et T : activité organogène foliaire suivie parallèlement sur deux lots de référence (A, effeuillage total et régulier ; T, témoin non effeuillé).

Fig. 4 - Demonstration of the relation between the duration of the laminar growth of a leaf maintained on the shoot and the activity of apical bud during the phase II.

Curves B (fig-a), C (fig-b) and D (Ffig-c) : mean number of leaves formed on shoots deprived, from day D0, of all leaves except one of various size (fig-a, lot B : adult leaf ; Fig-b, lot C : youngest leaf near the apex ; Fig-c, lot D : leaf with intermediate dimensions). Curves IF : mean growth in width of the leaf. Curves A and T : activity of the apical bud on cuttings culture simultaneously (A, total defoliation ; T, control).

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

acquis au préalable. Ayant connaissance de la réputation inhibitrice des cytokinines sur la rhizogenèse en général (MARGARA, 1982) et sur celle de la vigne en particulier (MULLINS, 1967 ; DROUHAULT, 1971 ; JULLIARD, 1973), au terme de cette expérience nous avons vérifié l'état d'enracinement des plants de ces différents lots, ce qui nous a permis de constater un fait que nous soupçonnions. Les boutures correspondant aux deux concentrations de 6-BAP et celles traitées à l'iP à sa dose la plus élevée (10^{-5}) ne possédaient que quelques rares racines, mais par contre présentaient souvent, surtout avec les apports de 6-BAP, un cal assez volumineux recouvrant la section basale. Seules les boutures traitées à l'iP à la concentration 10^{-6} avaient émis un nombre de racines comparable aux plants témoins.

Un des deux traits communs à la compétition « feuilles / inflorescences », et à celle qui nous préoccupe ici qu'il restait à établir, est parfaitement démontré. Comme pour les jeunes ébauches de grappes, il est possible de stimuler le fonctionnement du bourgeon apical pendant la phase II par des apports exogènes de cytokinines.

V - COMPARAISON DU DÉVELOPPEMENT CAULINAIRE CHEZ DES BOUTURES PRÉ-ENRACINÉES OU NON (EXPÉRIENCE N°5)

Le premier effet du préenracinement est d'anticiper le débourrement de quelques jours. Aussi, afin de faciliter la comparaison des courbes de la figure 6, nous les avons ramenées à un même temps J0, correspondant à la date où, pour chaque lot, 50 p. cent au moins des bourgeons avaient atteint le stade D (sortie des feuilles) de BAGGIOLINI (1952). Si nous avons choisi ce stade assez avancé, c'est en raison du volume réduit des bourgeons, tel qu'il nous a souvent été difficile de repérer les étapes précédentes plus discrètes de leur développement.

Le profil de la courbe témoin (T, figure 6) est très comparable à celui de la variation du nombre cumulé de feuilles au cours du temps chez une bouture de vigne traditionnelle, avec l'inflexion caractéristique de la phase II.

Chez les boutures déjà pourvues de racines (P, figure 6), l'activité du bourgeon terminal est nettement amplifiée. Elle ne présente qu'un léger fléchissement, de courte durée, qui survient bien après celui observé chez le témoin puisqu'il précède juste la période où le rythme plastochronique devient maximal.

La mise en place d'un système racinaire avant le développement caulinaire a donc les mêmes effets stimulants sur le rythme de fonctionnement du bourgeon apical qu'un apport de cytokinines convenablement (molécules et concentrations) choisi.

Le dernier point de convergence recherché entre les résultats de MULLINS concernant l'évolution des inflorescences et la corrélation « jeunes feuilles / apex » révélée dans ce travail est ainsi acquis.

DISCUSSION

La forte diminution de l'activité apicale du rameau d'une bouture pendant la phase II de son développement a donc exactement la même origine que l'avortement des jeunes ébauches inflorescentielles pendant cette même période. Ces deux événements résultent d'une carence de ces organes vis-à-vis des cytokinines elle même due à la conjugaison de deux faits : absence ou rareté des sites privilégiés de production de cytokinines que représentent les racines et migration privilégiée de ces phytohormones vers les jeunes feuilles en croissance. Dans ce processus corrélatif à trois partenaires, les jeunes feuilles sont incontestablement les éléments dominants. En ce qui concerne l'apex et les

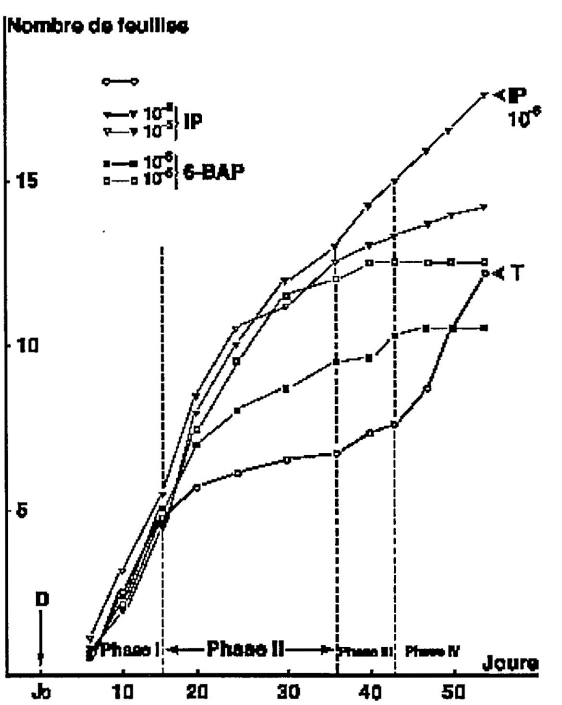

Fig. 5 - Effets d'un apport exogène de cytokinines, appliqué dès le débourrement des boutures (J0), sur l'activité organogène foliaire (nombre moyen de feuilles formées en fonction du temps) des pousses au cours des premières phases de leur développement.

Fig. 5 - Effects of exogenous applications of cytokinins from budburst (J0) on the apical activity (mean number of leaves as a function of time).

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

jeunes ébauches de grappes, leur comportement dans cette compétition, simple blocage temporaire de son activité pour le bourgeon terminal, avortement et abscission pour les inflorescences, indique l'inégalité suivante apex > inflorescences. L'ordre de la dominance est donc globalement jeunes feuilles > apex > ébauches de grappes.

Cette corrélation, envisagée telle qu'elle doit l'être, c'est à dire en termes de « sources / puits » soulève deux questions majeures : i/ pourquoi les feuilles en croissance ont-elles un tel pouvoir attractif vis à vis des cytokinines ? i// d'où proviennent les cytokinines dont peut disposer le rameau au cours des premières étapes de l'édification d'une bouture ?

Le premier point, MULLINS (1968) l'explique en se référant aux travaux de POZSAR *et al.* (1967) qui démontrent, chez le haricot, l'effet promoteur de la benzyladénine sur la synthèse des acides nucléiques et des protéines foliaires. Depuis, de nombreux articles ont été commis sur ce sujet des relations cytokinines / croissance foliaire. Une synthèse d'un grand nombre de ces travaux a été faite par GOODWIN et ERWEE (1983) d'où il ressort une certaine diversité dans la réponse de l'expansion des feuilles à des apports exogènes de cytokinines, mais aussi, en ce qui concerne la dépendance de cette expansion par rapport aux cytokinines endogènes. Toutefois, la stimulation de la croissance foliaire par les cytokinines est, à l'heure actuelle, un fait suffisamment bien établi pour qu'elle figure dans le répertoire des effets de ces phytohormones que l'on peut lire dans les ouvrages tels que ceux de DAVIES (1988) ou de STEWARD (1991). Dans l'état actuel des connaissances, on peut donc parfaitement concevoir que, chez la vigne, comme chez d'autres espèces, les jeunes feuilles en croissance soient des puits à cytokinines. En outre, le mode de transport de ces phytohormones est un autre élément qu'il convient d'évoquer dans l'analyse de ce problème. Ces molécules étant véhiculées dans le courant transpiratoire (NITSCH et NITSCH, 1965a ; KLÄMBT, 1968 ; TORREY, 1976 ; LETHAM, 1978 ; VAN STADEN et DAVEY, 1979 ; LETHAM et PALNI, 1983 ; DAVIES, 1988), les feuilles occupent incontestablement une position privilégiée dans leur mouvement au sein de la plante entière.

Venons en aux sources. Bien que les premières racines apparaissent dès le début de la phase II, leur rareté oblige à penser que la seule source en cytokinines dont dispose alors une bouture réside dans celles contenues dans les bois. MULLINS et RAJASEKARAN (1981) expriment la même opinion lorsqu'ils attribuent l'avortement des inflorescences d'une jeune bouture au fait que ses seules ressources en cytokinines sont celles contenues dans le bois. Pour étayer leur propos, ces auteurs ne font que produire la référence d'un article de SKENE (1971) consacré à l'étude de la présence de ces phytohormones dans les sarments de vigne. Nous proposons, pour notre part, d'examiner de plus près les résultats exposés dans ce travail. Le premier fait d'importance établi par SKENE est que, contrairement à d'autres ligneux tels que le pommier (LUCKWILL et WHYTE, 1968), une activité « cytokinines » est décelable dans les exsudats extraits d'un rameau de vigne récolté en hiver. Lorsque l'on confectionne une bouture à partir d'un tel sarment, elle dispose donc de certaines réserves en cytokinines. Toutefois, en regard des estimations chiffrées produites par SKENE, exprimées en équivalents kinétine, il apparaît que ce potentiel est extrêmement faible. Dans ce même article, l'auteur révèle qu'après six mois de stockage au froid (1 °C), les sarments ont un contenu endogène de cytokinines beaucoup plus élevé que celui décelé immédiatement après leur récolte. SKENE attribue ce résultat à une synthèse de ces hormones par le cambium en argumentant cette idée par les deux faits suivants : il a personnellement vérifié que, même dans ces condi-

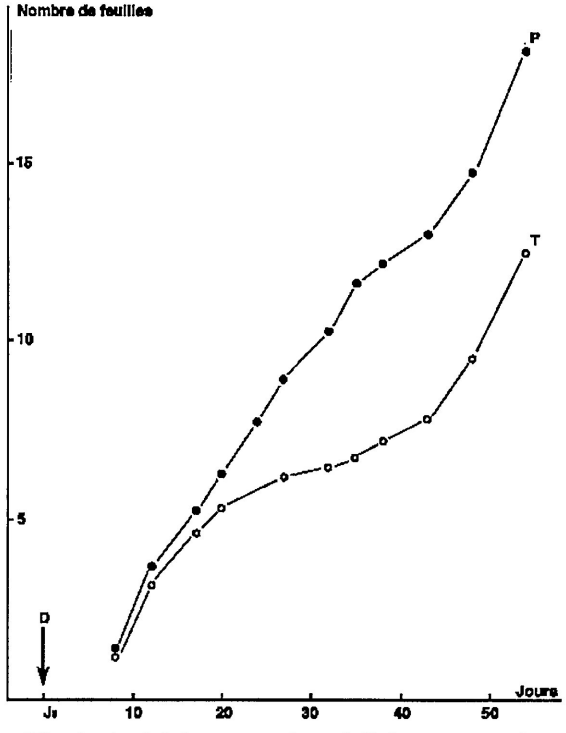

Fig. 6 - Activités organogènes foliaires comparées (nombre moyen de feuilles formées en fonction du temps) de boutures préenracinées (P) ou non (T), au début de leur développement.

Fig. 6 - Activity of apical bud (mean number of leaves as a function of time) on prerooting cuttings (P) compared to the control (T).

J. Int. Sci. Vigne Vin, 2001, **35**, n°3, 117-127
©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

tions thermiques défavorables, les cellules cambiales ne sont pas totalement quiescentes ; NITSCH et NITSCH (1965) ont montré (chez *Populus robusta*) que le cambium en activité est relativement riche en cytokinines et, qu'en conséquence, il peut être considéré comme un lieu de leur synthèse. Étant donné leur très faible quantité, si les cytokinines de « réserve » étaient les seules ressources du bois, il est peu vraisemblable qu'elles puissent répondre aux besoins du rameau pour la réalisation des deux premières phases de son extension. Si, par contre, dès cette époque où l'apparition des premières racines témoigne de sa réactivation, le cambium synthétise des cytokinines, le bois apparaît alors comme pouvant être une source suffisante.

Dès lors, les cytokinines mises à la disposition de la pousse auraient successivement les origines suivantes : phase I : consommation des cytokinines de « réserve ». Phase II : cytokinines élaborées par le cambium réactivé. Phase III : cytokinines produites par les racines (s'ajoutant aux cytokinines cambiales ?).

Dans cette proposition, il peut paraître paradoxal qu'une insuffisance en cytokinines ne se manifeste qu'à compter du début de la phase II, alors même qu'étant synthétisées par le cambium, elles devraient être moins déficitaires que dans la phase précédente au cours de laquelle cette synthèse n'aurait pas lieu. Le changement profond dans les rapports « sources / puits » entre les phases I et II explique, en réalité très bien ce paradoxe. Durant la phase I, il y a dégagement de feuilles préformées dans le bourgeon, mais ces premières feuilles du rameau de la bouture n'étalent pas leur limbe qui reste de petite taille. La croissance foliaire restant ainsi très limitée pendant cette phase on peut admettre que la source « réserve du bois » suffit alors pour alimenter le puits « surrection des premières feuilles » sans croissance laminaire. Le rapport « source / puits » est équilibré. C'est, par contre, dès le début de la phase II que les feuilles, mises en place pendant la phase I, réalisent leur croissance laminaire. Autrement dit, c'est en même temps que la source « cambium » devient productrice que, l'expansion des feuilles devient un puits fortement consommateur tel que, malgré cette synthèse, les besoins de l'apex et des ébauches foliaires ne peuvent être également satisfaits. L'équilibre « source / puits » n'est plus assuré qu'entre le cambium et les feuilles en croissance.

CONCLUSION

Les travaux scientifiques relatifs à la multiplication végétative de la vigne sont malheureusement, depuis plusieurs années, devenu trop rares, voire inexistants. Aussi, notre ignorance est-elle encore très importante sur de nombreux points concernant les processus fondamentaux impliqués dans l'édification d'une bouture de vigne. Ce travail a le mérite d'apporter des informations supplémentaires sur certains de ces processus. Il démontre en outre la fausseté de deux idées préconçues, mais malheureusement très répandues, selon lesquelles le ralentissement du développement caulinaire, après la première phase d'extension du bourgeon, serait dû à un épuisement des réserves glucidiques du bois et (ou) à une concurrence entre l'édification du rameau et la mise en place des nouvelles racines.

Remerciements : Nous adressons ici nos vifs remerciements à Sylvain Debord qui nous a précieusement aidé à l'élaboration de cet article.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

BESSIS R. et ECEVIT F.M., 1974. Analyse du problème de l'obtention de raisin sur des boutures dès la première année. *Connaissance Vigne et Vin*, **3**, 223-232.

CHAMPAGNAT P., 1961. Dominance apicale, tropismes, épinastie. *Handb. Pfl. Physiol.*, **14**, 872-887.

DAVIES P.J., 1988. *Plant hormones and their role in plant growth and development*.Ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

DROUHAULT R., 1971. Essais de détermination de conditions d'éclairement et de température et de substances hormonales de synthèse nécessaires à l'induction florale de la vigne (*Vitis vinifera* L. var. Cabernet sauvignon). *Thèse doctorat.* Université de Bordeaux I.

FOURNIOUX J.C., 1996a. Mise en évidence et analyse des caractères du phénomène de « croissance compensatoire » foliaire chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). *J. Int. Sci. Vigne et Vin*, **30**, 53-65.

FOURNIOUX J.C., 1996b. L'élongation internodale chez la vigne (*Vitis vinifera* L.) : influences foliaires et rôle de l'apex. *J. Int. Sci. Vigne et Vin*, **30**, 171-186.

FOURNIOUX J.C. et BESSIS R., 1980. Effet d'un effeuillage régulier sur la croissance et l'organogenèse du rameau de la vigne. *Bull. Soc. Bot. France*, **127**, Lettres ..., 23-34.

GOODWIN P.B. and ERWEE M.G., 1983. Hormonal influences on leaf growth. *In : The growth and functionning of leaves.* Ed. Cambridge University Press, Cambridge.

JULLIARD B., 1973. Étude physiologique de la rhizogenèse et des conditions de réussite du greffage de la vigne. *Thèse*, Paris.

KLÄMBT D., 1968. Cytokinine aus *Helianthus annuus*. *Planta*, **82**, 170-178.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

LETHAM D.S., 1978. Cytokinins 205-268. *In : Phytohormones and Related Compounds : A comparative Treatise. Vol. 1 : The Biochemistry of Phytohormones and Related Compounds*. Ed. Elsevier/North Holland, Amsterdam.

LETHAM D.S. and PALNI L.M.S., 1983. The biosynthesis and metabolism of cytokinins. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **34**, 163-197.

LUCKWILL L.C. and WHYTE P., 1968. Hormones in the xylem sap of apple trees. *In: Plant Growth Regulators.* S.C.I. Monogr., Londres.

MARGARA J., 1982. Bases de la multiplication végétative. *Les méristèmes et l'organogenèse.* Publication INRA, Paris.

MULLINS M.G., 1966. Test-plants for investigations of the physiology of flowering in *Vitis vinifera* L. *Nature*, **209**, 419-420.

MULLINS M.G., 1967. Morphogenetic effects of roots and of some synthetic cytokinins in *Vitis vinifera* L. *J. Experim. Bot.*, **18**, 206-214.

MULLINS M.G., 1968. Regulation of inflorescence growth in cuttings of the grape vine (*Vitis vinifera* L.). *J. Experim. Bot.*, **19**, 532-543.

MULLINS M.G. and RAJASEKARAN K., 1981. Fruit cuttings : Revised method for producing test plants of grapevine cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.*, **32**, 35-40.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1965a. Présence de phytokinines et autres substances de croissance dans la sève d'*Acer saccharum* et de *Vitis vinifera*. *Bull. Soc. bot.* France , **112**, 11-18.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1965b. Présence d'une phytokinine dans le cambium. *Bull. Soc. Bot. France*, **112**, 1-10.

POZSAR B.I., EL HAMMADY M. and KIRALY Z., 1967. Cytokinin effect of benzyladenine. Increase of nucleic acid and protein synthesis in bean leaves. *Nature* , **214**, 273-274.

SKENE K.G.M., 1971. Cytokinins in the Xylem Sap of Grape Vine Canes : Changes in Activity during Cold-Storage. *Planta* , **104**, 89-92.

STEWARD F.C., 1991. *Plant Physiology. A treatise. Vol. X : Growth and Development.* Ed. Academic Press, San Diego.

TORREY J.G., 1976. Root hormones and plant growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **27**, 435-459.

VAN STADEN J. and DAVEY J.E., 1979. The synthesis, transport and metabolism of endogenous cytokinins. *Plant, Cell and Environment*, **2**, 93-106.

manuscrit recu le 19 mars 2001 ;
accepté pour publication le 7 juin 2001

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)