Réponse de la vigne (*Vitis vinifera* L) aux températures inférieures à 0°C. III. Effets d'un refroidissement contrôlé sur des bourgeons au cours du débourrement

J Dereuddre ¹, JC Audran ², C Leddet ¹, E Ait Barka ², O Brun ³

¹ Université P-et-M Curie, laboratoire de Cryobiologie végétale, 12, rue Cuvier, F75005 Paris;

² UFR sciences, laboratoire de Biologie et Physiologie végétales, BP 347, F51062 Reims;

³ Mumm Perrier-Jouet, Vignobles et Recherches, 11, av de Champagne, F51200 Épernay, France

(Reçu le 30 juin 1992; accepté le 15 mars 1993)

Résumé — L'évolution du profil de cristallisation des bourgeons latents d'un cépage champenois a été suivie en analyse thermique différentielle de novembre 1987 à mai 1988. De novembre à début mars, le profil exothermique des bourgeons en repos végétatif (stade 1) est stable et apparaît toujours composé de 3 pics. À partir de la mi-mars, alors qu'aucune modification morphologique du bourgeon n'est décelable, les températures d'initiation des 3 pics s'élèvent. Au stade 2, montrant les premiers signes visibles d'une reprise de croissance du bourgeon, le troisième exotherme disparaît. Du stade 3 au stade 9, marqués par la croissance du bourgeon primaire, la remontée progressive de la température d'apparition des 2 exothermes suit l'évolution du stade phénologique. Cette élévation des températures de cristallisation se poursuit jusqu'au stade 9, lorsque le deuxième exotherme fusionne presque avec le premier. Au stade 2, seul le bourgeon primaire est affecté par le gel. La nature et l'intensité des dégâts varient ensuite en fonction du stade phénologique. Les déchirures tissulaires qui apparaissent perturbent profondément l'anatomie des bourgeons, dont la vascularisation est désorganisée. L'apex et les primordia inflorescentiels sont nécrosés.

gel de printemps / bourgeon / analyse thermique / tolérance / *Vitis vinifera* = vigne

Summary — **Analysis of the response of grapevine buds to controlled freezing.** The response of latent grapevine buds (*Vitis vinifera* L cv Chardonnay) from a Champagne vineyard was studied by means of differential thermal analysis from November 1987 to May 1988. During the rest period between November 1987 and March 15th, freezing thermograms (1°C/min) displayed 3 crystallization peaks (E_1 , E_2 and E_3) as previously described (fig 1). On and after the 15th of March, before any apparent morphological change in the bud, the freezing point (first exotherm) and starting temperatures of the 2 last exotherms (E_2 and E_3) increased progressively. At stage 2, corresponding to the swelling of the bud according to Eichhorn and Lorenz terminology, the starting temperature of the third exotherm increased, leading to the merging of the 2 peaks E_1 and E_2 : the thermograms displayed only 2 crystallization peaks. From stage 3 to stage 9 which corresponded to rapid elongation of the shoot and to growth of the leaf and inflorescence, the starting temperatures of the 2 remaining peaks continued to increase. This evolution, which was related to phenological stages, affected the second crystallization peak and led to the fusion of the 2 peaks: freezing thermograms at the end of the growth recovery period only displayed 1 exotherm. At stage 2, the first exotherm induced irreversible histological alterations in the main bud, whereas histological organization of the axillary bud remained apparently unaltered. At stage 5, which was particularly studied in this work, destruction affected every tissue: bark (fig 2), xylem and liber (fig 3), meristematic tissues of the apical dome (fig 4), and the leaf and inflorescence (fig 5).

spring frost / bud / thermal analysis / tolerance / *Vitis vinifera* = grapevine

INTRODUCTION

Au cours de son cycle végétatif, le complexe gemmaire latent de la vigne subit un ensemble de modifications morpho-anatomiques (Carolus, 1970) et physiologiques (Pouget, 1963 ; Nigond, 1967) qui s'accompagnent d'une évolution de son aptitude à la résistance au froid (Nikov, 1966 ; Eris, 1986 ; Schnabel et Wample, 1987 ; Hamman *et al*, 1990 ; Wolf et Cook, 1991).

Ainsi, la résistance au gel du bourgeon latent s'accroît progressivement à partir de novembre, atteint un maximum en janvier, puis s'atténue graduellement jusqu'en mars-avril, période du débourrement. Le bourgeon devient alors particulièrement sensible aux gelées de printemps, fréquentes en région champenoise. Bien que moins grave pour la plante que le gel d'hiver, car il n'entraîne qu'exceptionnellement la mort du végétal, le gel de printemps occasionne parfois des dégâts importants compromettant la récolte de l'année, comme en avril 1991. Dès que le bourgeon latent entre en croissance (bourgeon dans le coton), son bourgeon primaire peut geler dès $-2,5^{\circ}\text{C}$, et les bourgeons secondaires à partir de -3°C à $-3,5^{\circ}\text{C}$ (Lafon *et al*, 1961). Dans les bourgeons gelés dont les tissus morts sont de couleur brunâtre, la formation de glace dans les tissus riches en eau entraîne le développement de fissures et de crevasses dans le cambium, la moelle et le parenchyme cortical. Les vaisseaux conducteurs du xylème et du phloème sont disloqués (Branas, 1974 ; Galet, 1976).

Dans un précédent travail, nous avons montré que le bourgeon latent soumis à un refroidissement progressif était caractérisé par un profil de cristallisation tri-exothermique (Leddet *et al*, 1993). Nous nous proposons, dans la présente étude, de suivre en analyse thermique le devenir de ces 3 exothermes avant et pendant le débourrement du bourgeon latent et d'observer conjointement, en microscopie photonique, la nature et les modalités d'apparition des dégâts provoqués par le froid.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nos observations ont été effectuées, de novembre 1987 à mai 1988, sur les bourgeons latents d'un cépage champenois : le chardonnay (*Vitis vinifera* L) cultivé à Avize (Marne).

Compte tenu de l'augmentation progressive de la taille des bourgeons au cours du débourrement,

l'étude des cristallisations a été faite en analyse thermique différentielle (Quamme, 1986), entre 0 et -50°C , avec une vitesse de refroidissement de $1^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Rappelons que plusieurs stades phénologiques ont été définis en fonction du développement du bourgeon latent (code d'Eichhorn et Lorenz, 1977). Le stade 1 correspond au bourgeon d'hiver ; le stade 2 est caractérisé par le gonflement du bourgeon qui se développe à l'intérieur des écailles ; le stade 3 est appelé «bourgeon dans le coton», il précède les stades 5 et 7 définis par l'émergence et le déroulement de la première feuille (stade pointe verte) et le stade 9, avec 2 à 3 feuilles étalées et l'apparition des inflorescences.

RÉSULTATS

Évolution du profil de cristallisation

De novembre à mars, aucune évolution importante de la température de rupture de surfusion correspondant au premier exotherme n'a été notée. Le profil de cristallisation des bourgeons latents au stade 1 présente toujours les 3 exothermes caractéristiques du bourgeon latent (fig 1). Le premier correspond à la rupture de surfusion qui se produit dans les tissus de la base du bourgeon, le second aux cristallisations qui apparaissent dans l'axe et dans les ébauches foliaires des bourgeons, le troisième exotherme correspond à une généralisation de la cristallisation à l'ensemble du complexe gemmaire. Puis, à partir du 17 mars, alors qu'aucune transformation extérieure du bourgeon n'est perceptible, les

Fig 1. Évolution de la température d'initiation des pics de cristallisation E₁, E₂ et E₃, avec indication des écarts types obtenus, en fonction du stade phénologique des bourgeons (1 à 9) et de la date de prélèvement (novembre à mai). Les mesures ont été faites en analyse thermique différentielle.

températures d'apparition des 3 exothermes remontent progressivement en fonction de la date de prélèvement.

Dès les premiers signes d'une reprise de croissance au sein du bourgeon (stade 2) qui se manifestent par son gonflement, le troisième exotherme disparaît. Du stade 3 au stade 9, les températures d'initiation des 2 premiers exothermes s'élèvent et cette évolution a son point final au stade 9, lorsque la température de rupture de surfusion du second exotherme se rapproche de celle du premier exotherme.

Étude en microscopie photonique

Elle a été effectuée sur des coupes longitudinales de bourgeons aux stades 3, 5 et 9.

Bourgeon dans le coton (stade 3)

Dès l'apparition du premier pic exothermique qui se situe selon les échantillons entre -10°C et -13°C , l'anatomie du bourgeon primaire est profondément perturbée. Ainsi :

- au niveau de la jeune tige, les tissus médullaires et corticaux sont désorganisés : les cellules constitutives, dont les parois squelettiques sont rompues, perdent leur cohérence et des déchirures longitudinales importantes se développent ; en revanche, le méristème apical semble intact ;
- au niveau des inflorescences, les tissus des axes (future rafle) sont dilacérés et les cellules des méristèmes floraux (futures fleurs) sont nécrosées.

Ces dégradations cellulaires et tissulaires s'accroissent en fonction de l'abaissement de la température et vers -20°C , sur certains échantillons, nous avons pu constater la nécrose totale du bourgeon primaire.

Comme dans le bourgeon au stade 1, les bourgeons secondaires se révèlent plus résistants et les effets du froid, localisés à la base médullaire (cellules à cytoplasme rétracté), n'apparaissent que vers -20°C .

Bourgeon au stade pointe verte (stade 5)

Nos observations n'ont porté que sur le bourgeon primaire qui est en début de débourrement et qui se révèle particulièrement sensible au froid. En effet dès -6°C , -7°C , nous avons pu constater :

- le démantèlement de l'anatomie de la jeune tige par le développement important de déchirures longitudinales dans les tissus corticaux (désagrégation des zones conductrices) et de déchirures transversales dans le tissu médullaire (figs 2 et 3) ;
- la désagrégation des zones méristématiques, tant au niveau de l'apex caulinaire générateur du futur rameau, que des jeunes bourgeons axillaires en formation : futurs prompt-bourgeon et bourgeon latent (fig 4) ;
- et l'altération des inflorescences, dont les boutons floraux sont désorganisés ou nécrosés (fig 5).

Bourgeon au stade 9

Les dégradations observées sont similaires à celles rencontrées sur les bourgeons au stade 5, mais apparaissent à une température moins basse ($-4,8^{\circ}\text{C}$ au lieu de $-5,5^{\circ}\text{C}$ en moyenne). Les inflorescences sont profondément altérées.

DISCUSSION

Chez les vignes cultivées en région tempérée, la dormance gemmaire est généralement levée dès le mois de novembre. Jusqu'au moment de leur débourrement en mars-avril, les bourgeons sont ensuite dans un état dit de «prédébourrement» (Pouget, 1963), au cours duquel ils retrouvent leur faculté de croissance, qui ne devient effective que si les conditions climatiques le permettent. De ce fait, au cours de cette période, l'appareil gemmaire latent et en particulier son bourgeon primaire va subir, sous la pression des conditions extérieures, un ensemble de petites transformations histophysiologiques dont la sommation le conduit progressivement vers le débourrement (Pouget, 1963). Simultanément, et comme chez de nombreuses plantes pérennes des régions tempérées et froides (Dereuddre, 1977), l'aptitude des bourgeons de vigne à résister aux basses températures disparaît (Nikov, 1966 ; Eris, 1986 ; Hamann *et al*, 1990 ; Wolf et Cook, 1991).

Les observations effectuées en analyse thermique différentielle durant cette période montrent que la perte de la tolérance au froid se caractérise, d'une part, par une remontée progressive des températures de rupture de surfusion et, d'autre part, par un changement du

Figs 2–5. Effets du gel sur les bourgeons de vigne au stade 5 (stade pointe verte). **2.** Déchirures tissulaires à l'origine des crevasses transversales se développant dans la moelle de l'axe embryonnaire (flèches) (x 900). **3.** Déchirures longitudinales dans le cortex (grosses flèches) et rupture des vaisseaux conducteurs (petite flèche) (x 900). **4.** Jeune bourgeon axillaire dont l'architecture histo-anatomique est désorganisée par la formation de cavités issues d'éclatement cellulaire (x 400). **5.** Inflorescence. Nécrose des boutons floraux (x 400). M: moelle; VC : vaisseaux conducteurs; C : cortex; Bg Ax : bourgeon axillaire; BF : bouton floral; AI : axe inflorescenciel; B : bractée.

profil de cristallisation. Ce phénomène conforte les observations d'Ilier *et al* (1991) réalisées *in situ* en Champagne. De novembre à mai, les températures de cessation de surfusion du bourgeon passent de -12°C à -4°C . La remontée progressive des températures s'effectue à partir du mois de mars. La première phase, de faible amplitude, a lieu de mi-février à mi-mars et se développe sans modification apparente du stade phénologique. Elle semble correspondre à une évolution physiologique du bourgeon avant son débourrement. La seconde phase, de forte amplitude, s'établit rapidement, parallèlement aux changements anatomiques et physiologiques du bourgeon latent accompagnant son débourrement. Chez la vigne, comme cela a été rapporté chez d'autres végétaux tels que le pin et le bouleau (Dereuddre, 1977), la tolérance au gel reste liée à l'état latent du bourgeon.

Comme cela a été observé chez le cabernet sauvignon et le cabernet franc (Wolf *et al*, 1991), la vitesse de la perte de la tolérance au froid des bourgeons varie selon la nature du cépage : le pinot noir se désendurcit plus rapidement que le chardonnay. De même, cette variabilité du retour à la sensibilité au froid s'observe pour un même cépage, entre organes différents. Ainsi, nous avons constaté que la remontée des températures de cristallisation s'effectue plus vite dans le sarment que dans le bourgeon, pour aboutir au stade 9 à des températures de cristallisation similaires dans ces 2 compartiments de la plante. Cette similarité souligne, d'une part, le rôle initiateur du sarment dans la formation de la glace dans le bourgeon et, d'autre part, la disparition des barrières, probablement anatomiques, entre régions caulinaires et gemmaires avec la reprise des flux de sève.

Les modifications du profil de cristallisation s'expriment par la disparition précoce du troisième exotherme et par la fusion des 2 premiers exothermes. Ces transformations correspondent, d'une part, à la perte par les tissus de leur capacité à développer le phénomène de surfusion, au niveau de leurs liquides intracellulaires, et, d'autre part, à la forte réhydratation liée à la parenchymatisation des tissus gemmaires, consécutive à la reprise effective de la croissance du bourgeon. L'existence à terme d'un seul exotherme exprime une prise en glace brutale et totale de l'ensemble des tissus gemmaires.

Dans le bourgeon latent, les bourgeons secondaires se sont révélés toujours plus résistants au

froid que le bourgeon primaire. Cela est à relier au fait que contrairement au bourgeon primaire, les bourgeons secondaires sont structuralement et histologiquement peu différenciés, en particulier en ce qui concerne le système conducteur qui demeure à l'état de procambium. À leur niveau, et quel que soit le stade phénologique atteint par le bourgeon latent, les effets du froid sont discrets, limités à leur tissu médullaire basal et essentiellement d'ordre cytologique.

En ce qui concerne le bourgeon primaire, l'intensité des dégâts causés par les basses températures négatives s'accroît progressivement du stade 1 au stade 9 où leur expression est maximale. Il apparaît, de ce fait, que la nature et l'importance des dégradations enregistrées se révèlent étroitement dépendantes du degré de différenciation histo-anatomique de ce bourgeon.

Rappelons que, dans les bourgeons latents, les atteintes du froid ne se manifestent qu'à l'échelle cellulaire (rétraction protoplasmique), les tissus conservant leur intégrité (Leddert *et al*, 1993). En revanche, dès le stade bourgeon dans le coton, en plus des effets cellulaires, apparaissent des déchirures et des nécroses tissulaires. Le développement de crevasses transversales dans la région médullaire et longitudinales dans le cortex désorganise l'anatomie primaire de l'axe embryonnaire et en particulier du système conducteur, compromettant irrémédiablement le devenir du bourgeon primaire. Des événements similaires s'observent aussi au niveau des axes principaux des inflorescences dont les boutons floraux, en fonction de leur degré de différenciation, sont soit entièrement nécrosés, soit partiellement désorganisés par éclatement des cellules. La destruction des méristèmes apicaux et axillaires est plus tardive et ne devient effective qu'au stade pointe verte.

La rapidité et les modalités du développement de la cristallisation dans le bourgeon latent varient aussi selon le stade phénologique. Dans le bourgeon latent, isolé du sarment, la cristallisation s'établit progressivement à partir de la base du bourgeon et s'étend successivement au bourgeon primaire, puis à la base des bourgeons secondaires. Pour les bourgeons dans le coton, la cristallisation de la base du bourgeon gagne rapidement le bourgeon primaire et plus tardivement la base des bourgeons secondaires. Enfin, au stade pointe verte, la cristallisation affecte d'emblée la totalité du bourgeon primaire.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un programme de recherche financé par la Commission nationale des calamités agricoles, que les auteurs remercient.

RÉFÉRENCES

- Audran JC, Leddet C, Dereuddre J, Ait Barka E, Brun O (1993) Réponse de la vigne (*Vitis vinifera* L) aux températures inférieures à 0°C. I. Effet d'un refroidissement contrôlé sur des sarments aoûtés. *agronomie* 13, 491-498
- Branas J (1974) *Viticulture*. Dehan, Montpellier
- Carolus M (1970) Recherche sur l'organogenèse et l'évolution morphologique du bourgeon latent de la vigne (*Vitis vinifera* L var Merlot). Thèse de 3^e cycle, Bordeaux, 147 p
- Dereuddre J (1977) Adaptations physiologiques des végétaux au froid. *Bull Soc Ecophysiol* 2, 5-15
- Eichhorn KW, Lorenz DH (1977) Phänologische Entwicklungsstadien des Rebe. *Nachrichtenbl Dtsch Pflanzenschutzdienstes (Braunsch)* 29, 119-120
- Eris A (1986) Frost resistance tests of some grape varieties grown in Ankara conditions. *Vignevini XII*, 12, 105-110
- Galet P (1976) *Précis de viticulture*. Dehan, Montpellier, 3^e éd
- Hamman RA, Renquist AR, Hugues HG (1990) Pruning effects on cold hardiness and water content during deacclimation of Merlot bud and cane tissues. *Ann J Enol Vitic* 41, 251-260
- Itier B, Flura D, Brun O, Luisetti J, Gaignar JL, Choisy C, Lemoine G (1991) Analyse de la gélimité des bourgeons de vigne. Expérimentation *in situ* sur le vignoble champenois. *agronomie* 11, 169-174
- Lafon J, Couillaud P, Hude P (1961) *Maladies et parasites de la vigne*. Baillière et Fils, Paris, tome 2, 288 p
- Leddet C, Audran JC, Dereuddre J, Ait Barka E, Brun O (1993) Réponse de la vigne (*Vitis vinifera* L) aux températures inférieures à 0 °C. II. Effets d'un refroidissement contrôlé sur des bourgeons latents avant le débourrement. *agronomie* 13, 499-508
- Nigond J (1967) Recherches sur la dormance des bourgeons de la vigne. *Ann Physiol Vég* 9, 107-152, 197-233, 273-338, 397-414
- Nikov M (1966) Résistance de la vigne au froid. *Progr Agric Vitic* 83, 7-14
- Pouget R (1963) Recherches physiologiques sur le repos végétatif de la vigne (*Vitis vinifera* L). Thèse de Doctorat sciences naturelles, Bordeaux. *Ann Amélior Plantes* 13, (numéro hors série) 247 p
- Quamme HA (1986) Use of thermal analysis to measure freezing resistance of grape buds. *Can J Plant Sci* 66, 945-952
- Schnabel BJ, Wample RL (1987) Dormancy and cold hardiness in *Vitis vinifera* L cv white Riesling as influenced by photoperiod and temperature. *Ann J Enol Vitic* 38, 397-414
- Wolf TK, Cook MK (1991) Comparison of "Carbernet Franc" grapevine dormant bud cold hardiness. *Fruit Var J* 45, 17-21