

Etude morphologique et histologique du complexe axillaire chez *Acacia cyanophylla* Lindl

Morphological and Histological Survey of foliar axil in *Acacia cyanophylla* Lindl

Nahoufel SOUAYAH*, Hichem REJEB**, Abd El Kader AMARA*** et Sadok BOUZID****

Abstract: The microscopic observation of foliar axil at *Acacia cyanophylla* (Lindl.) showed the presence of a gemmaire complex that is constituted by several buds. The morphological and histologic survey has been done on twigs cut off on the adult individuals, of 6 years old. This survey permitted to identify the spatial order of this axillary complex (4 to 6 buds). Every bud presents an organized peripheral zone by the protective scales that surround a meristematic zone.

Buds of the same node level are characterized by the different development stages. Their differential organogenetic states have an influence on their morphogene growing up. The morphogenetic development of each bud, at the same nodal area seems to be managed by the phyllode (modified leaf) action and the buds interaction. The more structured bud has the competence of an anticipated-bud, while the existing collateral buds are less active. Otherwise, a temporal morphogenetic and organogenetic differentiation is put in evidence, during the vegetative and reproductive periods of the plant.

Key words : histology – morphogenesis - axillary complex - *Acacia cyanophylla*

Résumé: L'observation microscopique des aisselles foliaires chez *Acacia cyanophylla* (Lindl.) a montré la présence d'un complexe gemmaire constitué de plusieurs bourgeons. L'étude histologique a été effectuée sur des rameaux prélevés chez des individus adultes, âgés de 6 ans. Cette étude a permis d'identifier l'ordre spatial de ce complexe axillaire (4 à 6 bourgeons). Chaque bourgeon présente une zone périphérique constituée par des écailles protectrices qui entourent une zone méristématique.

Les bourgeons d'un même niveau nodal sont placés sur des plans différents et caractérisés par des stades de développement différentiels. Leurs états organogènes différentiels ont une influence sur leur devenir morphogène. Le développement morphogénétique de chaque bourgeon, au niveau de l'aire nodale, semble être géré par l'action du phyllode (feuille modifiée) et les interactions inter-bourgeons. Le bourgeon le plus structuré a la compétence de prompt-bourgeon, alors que les autres bourgeons de la même aisselle sont moins actifs. Par ailleurs, une différenciation morphogénétique et organogène temporelle est mise en évidence, au cours de la période végétative et la période reproductrice de la plante.

Mots clés : histologie – morphogénèse - complexe gemmaire - *Acacia cyanophylla*.

INTRODUCTION

Acacia cyanophylla (Lindl.) est une Mimosacées arbustive de la famille des Fabacées. D'origine australienne (HOPPER et MASLIN, 1978), elle fut introduite au Moyen orient et en Afrique du Nord vers 1916 (POTTIER, 1979).

En Tunisie, cette espèce est utilisée pour son intérêt agro-sylvo-pastoral dans les programmes de reboisement pour lutter contre la désertification et l'ensablement (SOUAYAH, 1993) ainsi que dans les programmes d'amélioration des parcours (LAAMOURI et al, 2002). Les phyllodes, riches en protéines sont très appréciés par le bétail surtout durant les périodes critiques de l'année où l'herbe fait défaut. Les graines sont riches en protéines et en acides gras (SOUAYAH et al, 1995).

* - Laboratoire d'Ecologie et d'Amélioration Sylvopastorale INRGREF- Faculté des Sciences, Gabès.

** Laboratoire d'Arboriculture, Ecole.Horticulture.Chott.Meriem, Sousse.

*** Laboratoire d'Histologie, Ecole .Médecine.Vétérinaire., Sidi Thabet. Ariana

**** Laboratoire de Biologie Végétale, Faculté. Sciences. Tunis.

La multiplication de l'*Acacia* s'effectue classiquement par semis, donnant des plants marqués par une variabilité très élevée. Sa multiplication végétative par bouturage est très limitée. La micropropagation *in vitro* pourrait constituer une nouvelle voie pour assurer rapidement sa multiplication afin de repeupler les sols dégradés par des plants issus d'individus performants (résistants à la sécheresse, à la salinité, biomasse élevée..). Cette technique est tributaire de la nature et du nombre des formations gemmaires.

Ces formations sont également à l'origine de la biomasse aérienne.

Les travaux histologiques concernant les aisselles foliaires sont peu nombreuses (MICHAUX, 1964 ; BOUGUEDOURA, 1979 ; BOUZID, 1983 ; FINCK, 1986 ; REJEB, 1997). Les données relatives à la structure des formations gemmaires chez cette espèce et même chez d'autres espèces du même genre n'ont pas été rapportées.

La présente étude a été menée afin de caractériser la structure du complexe axillaire chez l'acacia. Elle intègre des approches morphogénétique et cyto-histologique.

MATERIEL ET METHODES

Des observations microscopiques ont été réalisées sur des aisselles foliaires. Les rameaux (figure 1) sont prélevés sur des individus adultes âgés de six ans, se trouvant dans le jardin botanique de l'INRGREF. Le prélèvement s'est effectué au cours de la période végétative (Octobre-Novembre) et la période pré-inflorescentielle (Décembre-Janvier).

Les nœuds sont fixés dans une solution de F.A.A (Formol, Acide acétique et Alcool éthylique) pendant 24 heures, puis lavés à l'eau courante pendant 24 heures. Ils sont ensuite soumis à une déshydratation progressive dans des solutions croissantes d'alcool éthylique (20°, 30°, 40°, 60° et 70°), puis placés dans un automate à inclusion, qui renferme des bains d'alcool absolu, de toluène et de paraffine. Après inclusion, les échantillons sont enrobés dans des blocs de paraffine et coupés à l'aide d'un microtome. Les coupes d'une épaisseur de 8 microns sont réalisées suivant un plan longitudinal radial ou longitudinal sagittal et transversal. Ces coupes sont ensuite étalées sur des lames de verre avec quelques gouttes d'eau distillée. L'étalement complet de ces coupes se fait sur une plaque chauffante à 30°C, puis elles sont séchées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

Les objets sont colorés soit par une double coloration (hématoxyline - éosine), pendant une heure (AMARA, 1984), soit par une triple coloration (hématoxyline - safranine - bleu d'aniline), pendant 24 heures (BOUZID, 1983) et montés au baume de Canada.

RESULTATS

Etude morphologique du complexe axillaire :

L'observation de nombreux rameaux montre l'existence d'un complexe gemmaire au niveau de la base de chaque phyllode. Ce complexe se compose de plusieurs unités ayant des tailles différentes (figure 1). La caractérisation spatiale de ces bourgeons se présente comme suit :

Les unités relativement de petite taille sont situées au centre de la zone médiane (selon un plan longitudinal radial) de l'aisselle du phyllode ; alors que les unités les plus développées sont dégagées vers l'extérieur. Elles sont protégées par des feuilles abortives transformées en écailles imbriquées et portant des poils tecteurs. Celles qui sont externes sont brunâtres. Les internes sont chlorophylliennes.

Au niveau de chaque aisselle on observe une unité de taille relativement plus importante qui se caractérise par un état structural plus développé. Une nette différence dans la taille et la structure est également notée, au cours de l'année. La structuration de cette unité est plus marquée au cours de la période de préfloraison, elle est moins importante au cours de la période végétative.

Etude cyto-histologique du complexe axillaire :

L'analyse cyto-histologique a montré qu'un bourgeon axillaire est constitué par une zone centrale, entourée d'une zone périphérique, dont la structure est très variable. La zone centrale est formée par un massif de petites cellules à paroi mince, un gros noyau central et un cytoplasme dense. C'est un massif de cellules méristématiques dont l'activité varie en fonction du bourgeon. Ce massif est entouré par des écailles protectrices constituées de deux types de tissus à cellules différenciées possédant un petit noyau latéral et une vacuole importante. On distingue un épiderme à cellules allongées jointives et à paroi épaisse, formant une assise de cellules périphériques qui entoure un tissu parenchymateux. Les écailles externes de chaque bourgeon sont les plus différenciées et leurs cellules sont en continuité avec les assises superficielles de la zone médiane de l'aisselle du phyllode.

Au niveau de cette zone et selon un plan longitudinal radial, nous pouvons observer jusqu'à six formations gemmaires (figure 2). Chacune d'entre-elles est constituée de tissus vasculaires, qui sont en connexion avec le tissu de l'aisselle foliaire. Au centre de la zone médiane, on observe une petite unité constituée par une structure simple et réduite à un dôme méristématique (bax.6). Cette unité a développé du côté droit un primordium d'une ébauche foliaire. De part et d'autre de cette unité on observe des bourgeons plus structurés : un bourgeon (bax.5) qui a développé une écaille et un initium foliaire. Un bourgeon (bax.3), coupé transversalement et qui a développé 4 écailles et 1 à 2 initiums foliaires.

Le bourgeon (bax.2) a développé 8 écailles et 2 ébauches foliaires. Celui-ci présente une structure plus développée. Les ébauches foliaires présentent une zone centrale méristématique.

Enfin, à l'extrémité opposée de l'emplacement du bourgeon (bax.2), on observe le bourgeon le plus structuré (bax.1). Ce bourgeon présente 10 à 12 écailles bien différenciées et 4 ébauches foliaires. A l'aisselle des ébauches foliaires s'initie un bourgeon. Le méristème apical est caractérisé par un anneau initial très dense, un méristème médullaire, un procambium et un méristème intercalaire.

L'analyse des coupes longitudinales sagittales (figure 3) a montré que, le bourgeon bien développé (prompt-bourgeon) se trouve du côté de l'axe, alors que les plus petites unités se trouvent du côté du phyllode.

Chaque bourgeon (n) développe sa première écaille du côté opposé au bourgeon (n-1).

Les coupes réalisées selon un plan transversal peuvent montrer la présence de trois bourgeons (figure 4) : la base du prompt-bourgeon (bax'.1) avec son écaille la plus externe ; du côté opposé, un bourgeon assez développé (bax'.2) présentant des écailles et une surface méristématique centrale développant une ébauche foliaire. Entre ces deux bourgeons on observe une partie d'une écaille d'un troisième bourgeon (bax'.3)

Par ailleurs, l'observation des aisselles foliaires au cours de la période végétative a montré qu'au début de la phase végétative, le prompt-bourgeon possède une structure simple avec un anneau initial peu actif (figure 5). Par contre, les rameaux prélevés en pleine phase végétative présentent un prompt-bourgeon, dont le méristème développe des ébauches d'écailles ou de feuilles (figure 6). Des ébauches de méristèmes d'ordre supérieur peuvent être observées.

Au niveau des échantillons prélevés pendant la phase pré-inflorescentielle, l'organogenèse est davantage plus développée (figure 7). Le prompt-bourgeon présente un méristème développant des écailles, des ébauches d'écailles, de feuilles ainsi que des ébauches d'une inflorescence. Le procambium ainsi que des méristèmes médullaire et intercalaire sont observés. De même, des ébauches de méristèmes d'ordre supérieur prennent naissance, à l'aisselle des ébauches inflorescentielles.

DISCUSSION

L'étude microscopique des coupes histologiques a permis de caractériser la présence d'un complexe gemmaire au niveau de chaque nœud. Ce complexe gemmaire est constitué de petites et de grandes unités. On observe 5 à 6 bourgeons écailleux, qui naissent directement au niveau d'une même aisselle pétiolaire. Une activité méristématique et une zonation progressives sont de plus en plus nettes. Une unité plus structurée que le reste du complexe gemmaire, le prompt-bourgeon, serait le résultat d'une activité morphogénétique, plus intense que chez les autres unités, vraisemblablement inhibées. Ce prompt-bourgeon se différencie du côté de l'axe, alors que les bourgeons les moins structurés prennent naissance du côté du phyllode. Cette différenciation morphogénétique atteint son maximum au niveau du prompt-bourgeon. Ces observations ont été décrites par MICHAUX en 1964 sur *Jussiaea grandiflora* et par BOUGUEDOURA en 1979 sur *Phoenix dactylifera*. Nous avons remarqué également que, les massifs méristématiques de ces structures gemmaires émettent deux types d'ébauches foliaires. Une ébauche foliaire constituée d'un épiderme simple et d'un tissu parenchymateux. C'est une ébauche d'une écaille protectrice. Le nombre de ces écailles et leur rapprochement varient chez les différents bourgeons de la même aisselle foliaire, ou prélevés à différentes périodes de l'année. Cette variation est liée à l'activité morphogénétique de chaque type de bourgeon. Le deuxième type d'ébauche foliaire, observé chez (bax.2) et (bax.1), et dont l'épiderme entoure un tissu méristématique, constitue un primordium foliaire qui va se transformer par la suite en phyllode (ou en feuille composée chez les plants juvéniles). Ces deux bourgeons sont donc histogènes et organogènes à l'instar des bourgeons terminaux (MEDFORD, 1992)

Par ailleurs, nous avons noté la présence des bourgeons peu actifs à proximité du phyllode et la position éloignée des bourgeons les plus structurés. Le phyllode qui axile les structures gemmaires agit au niveau de leur mise en place et sur leur activité. Ceci peut rejoindre les travaux de ELHAJZEIN (1977) sur *Gleditschia triacanthos* L. et ceux de NOZERAN (1986). Des interactions similaires à ces interactions (feuille-bourgeons) existeraient entre les bourgeons eux mêmes et influent sur l'emplacement et l'activité de chacun d'eux (FINCK, 1986 ; MEDFORD, 1992 ; MEYROWITZ, 1999). La différenciation des tissus et des ébauches de chaque bourgeon semble tenir compte de la position spatiale des bourgeons qui lui sont adjacents. Ces observations confirment celles qui ont été décrites sur la vigne (BERNARD et MUR, 1979 ; MARGARA, 1986 ; GUILLEMOT, 1994). Par conséquent, ces bourgeons sont placés sur des plans différents.

Par ailleurs, l'observation de plusieurs échantillons qui sont prélevés au cours de différentes périodes de l'année (début de la phase végétative, phase végétative ou phase de préfloraison), met en évidence une activité organogénétique et morphogénétique différentielle, qui dépendrait du rythme de croissance, qui constitue la base de l'organisation temporelle des activités physiologique et morphogénétique de l'arbre (MEDFORD, 1992 ; REJEB et CRABBE, 1999).

Au cours du début de la phase végétative, le prompt-bourgeon présente une activité peu importante. Par contre, pendant la phase végétative, son activité méristématique et organogène est plus importante. Elle devient plus marquée, pendant la phase reproductrice.

CONCLUSIONS

Notre étude a permis d'identifier la présence d'un complexe gemmaire, au niveau de chaque aisselle foliaire chez des individus adultes d'*Acacia cyanophylla*.

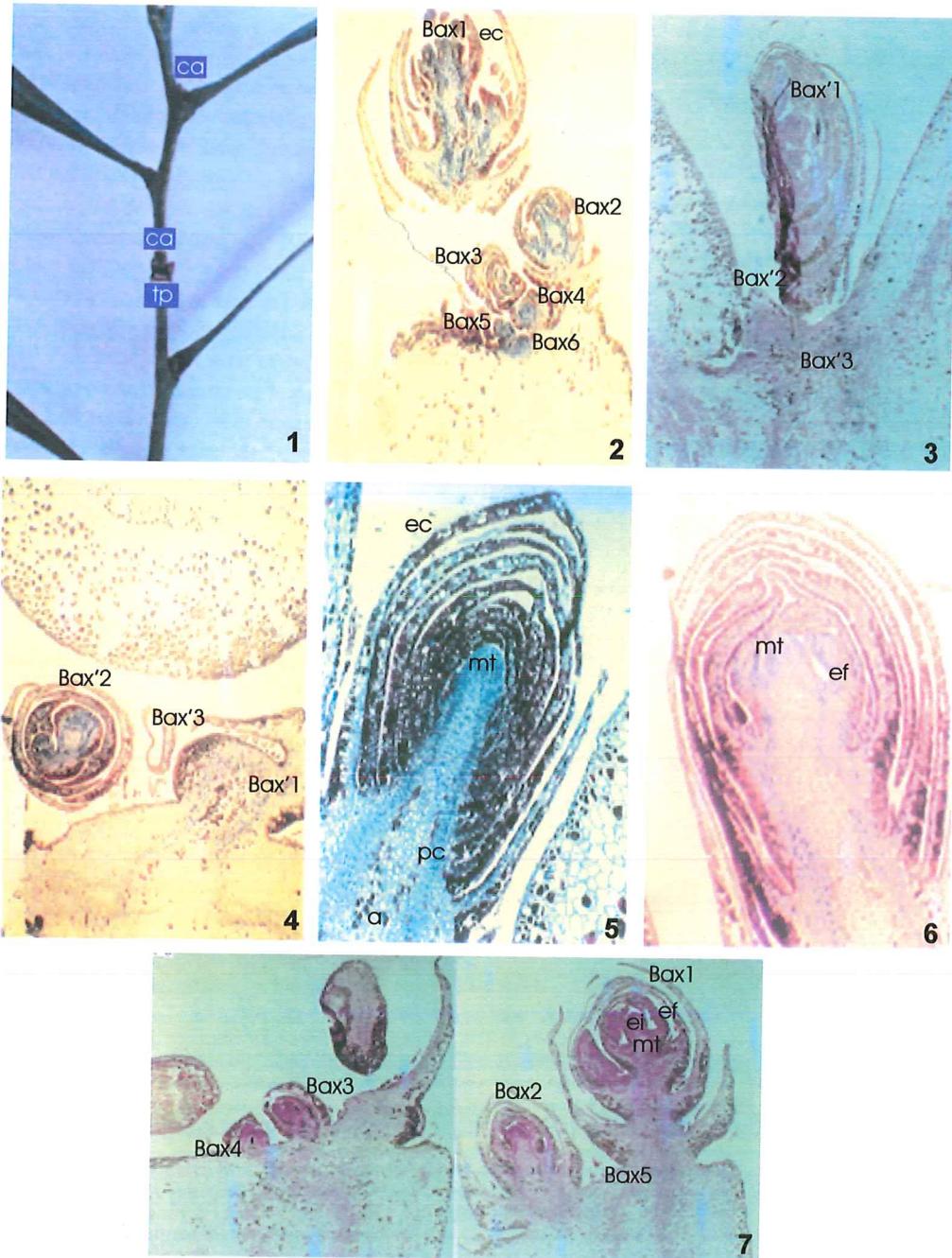
Les faits essentiels qui peuvent être dégagés :

L'étude cyto-histologique révèle la présence d'un reliquat méristématique potentiel. Ce complexe gemmaire est un ensemble de bourgeons écailleux (5 à 6 bourgeons) qui naissent directement au niveau des aisselles pétiolaires.

Ce sont des bourgeons de même niveau nodal (ordre). Cependant, ils sont placés sur des plans différents et montrent des degrés d'importance morphogénétique différentiels.

Le bourgeon le plus structuré serait vraisemblablement le prompt-bourgeon. Alors que les autres

Planche



- Fig. 1: complexe gemmaire au niveau d'un rameau d'*Acacia cyanophylla* Lindl.
ca: complexe axillaire tp: trace du phyllode
- Fig. 2: coupe longitudinale médiane d'un complexe gemmaire chez *Acacia cyanophylla* Lindl.
Epaisseur: 8 μ ; triple coloration (gr: x 40)
Bax1: prompt-bourgeon Bax2, Bax3, Bax4, Bax 5, Bax6: bourgeons d'un complexe gemmaire de taille décroissante ec: écaille protectrice
- Fig. 3: coupe longitudinale sagittale d'un complexe gemmaire chez *Acacia cyanophylla* Lindl.
Epaisseur: 8 μ ; double coloration (gr: x 40)
- Fig. 4: coupe transversale d'un complexe gemmaire
- Fig. 5: coupe longitudinale sagittale d'un prompt-bourgeon peu actif. Epaisseur: 8 μ ; triple coloration (gr: x 40) a: axe de la tige pc: procambium mt: méristème terminal
- Fig. 6: coupe longitudinale sagittale d'un prompt-bourgeon en activité végétative intense
Epaisseur: 8 μ , triple coloration (gr. X 40) mt: méristème terminal ef: ébauche foliaire
- Fig. 7: coupes sériées d'un complexe gemmaire prélevé en période d'induction florale
Epaisseur: 8 μ , double coloration (gr: x 40)
Bax1: prompt-bourgeon Bax2, Bax3, Bax4, Bax5: bourgeons d'un complexe gemmaire
mt: méristème terminal ef: ébauche foliaire ei: ébauche inflorescentielle

auraient les potentialités de bourgeons peu actifs.

Au cours de la phase végétative et florale, une différenciation morphogénétique et organogénétique, spatio-temporelle est notée. Ces bourgeons semblent être sous le contrôle de corrélations inter-organes. Des interactions feuille-bourgeons et inter-bourgeons sont à la base de l'activité de ces structures gemmaires.

Cette étude nous a permis d'approfondir nos connaissances sur les structures gemmaires. En effet, l'analyse de ces structures est indispensable pour leur valorisation en plusieurs domaines, tels que l'étude morphogénétique (MEYROWITZ, 1998), l'étude de la rythmicité biologique (CHAMPAGNAT *et al*, 1986; REJEB et CRABEE, 1999), la multiplication végétative et la culture in vitro. Une étude plus poussée permettrait d'avoir une idée plus complète sur l'ontogenèse de ces structures, afin de mieux orienter le choix du matériel végétal dans nos expérimentations.

Ces bourgeons axillaires constituent le matériel végétal de prédilection pour la micro propagation in vitro, technique qui est utilisée avec succès chez d'autres espèces sylvopastorales (SOUAYAH *et al*, 1999). Une multiplication intense de pousses axillaires peut être obtenue, ainsi qu'un grand nombre de clones performants (SOUAYAH *et al*, 2000).

Par ailleurs, ces connaissances notables sur les structures gemmaires peuvent nous inciter à suivre leur développement vers la floraison

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Mme le Professeur Saida AMMAR (de la faculté des sciences de Tunis) et Monsieur le Professeur Mohamed BOUSSAID (de l'institut national des sciences appliquées technologiques de Tunis) pour leurs conseils scientifiques et la lecture de ce manuscrit.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMARA, A., 1984. Les techniques immuno-histo-enzymatiques. Application aux diagnostics en pathologie vétérinaire. Mémoire de D.E.A. / I.N.P - Toulouse, France : 98 p.
- BERNARD, A.C et G. MUR, 1979. Observations sur l'organogenèse des bourgeons de plants de *Vitis vinifera* cultivé in vitro. Ann.Am.Pl, 29 (3) : 311-323.
- BOUZID, S ., 1983. Morphogenèse et possibilités nouvelles de multiplication végétative in vitro chez les *Citrus*. Thèse d'Etat, F.Sc.Tunis : 136 p.
- ELHAJZEIN, B ., 1977. Etude expérimentale de la dominance apicale et des corrélations contrôlant la croissance des bourgeons chez *Gleditsia triacanthos* L. Thèse d'Université, Aix Marseille III : 208p.
- CHAMPAGNAT, P., CHAMPAGNAT, M., BARNOLA, P. & BERTHELON, C., 1986. La croissance rythmique de jeunes chênes pédonculés cultivés en conditions contrôlées et uniformes. *Naturalia monspeliensia*. Colloque international sur l'arbre.
- GUILLEMOT H.,1994. Les spirales aspirées par le nombre d'or. Sciences et Vie, (mai) : 48-55.
- HOPPER S.D et MASLIN B.R ; 1978. Phytogeography of *Acacia* in Western Australia. Australian journal of botany, 26 : 63-78.
- LAAMOURI A., CHTOUROU A, et H. BEN SALEM, 2002. Prédiction de la biomasse aérienne d'*Acacia cyanophylla* Lindl.(Syn. :*A.saligna* (Labill.) H.Wendell) à partir de mensurations dimensionnelles. Ann.For.Sci. 59 : 335-340.
- MARGARA J; 1989. Base de la multiplication végétative. Les méristèmes et l'organogenèse. 262 p.
- MEYEROWITZ E.M., 1998. Voici des gènes, des tiges, des feuilles et des fleurs. La Recherche, 305 : 46-49.
- MICHAUX N; 1964. Structure et évolution d'un méristème apical de *Jussiaea grandiflora* durant les phases végétatives, et reproductrices. Rev gen. Bot, 91-173.
- N.A.S.,1979. *Acacia saligna* LABILL H. wendl "Tropical Leguminous ressources for the future" . Washington, 284p.
- POTTIER ALAPETITE; 1979. Flore de la Tunisie : 291p.
- REJEB H ., 1997. Etude de la croissance du Pommier en conditions naturelles contrastées. Ann. de l'INRAT, 70.
- REJEB H. et J.CRABBE., 1999. Etude morphogénétique de la croissance rythmique du Pommier. I- Activités différentielles des composants de croissance. Ann. de l'INRAT, 3 : 51-62.
- SOUAYAH N.; 1993. Essai de multiplication végétative et étude du comportement morphogénétique in vivo et in vitro de l'*Acacia* . DEA, F.Sc.Tunis, 80p.
- SOUAYAH N., 1995. Valeur alimentaire des graines de quelques espèces d'*Acacias*. Séminaire sur la valorisation de l'*Acacia*, Sousse.

SOUAYAH N., 2000. Nouvelles possibilités d'obtention et de multiplication rapide de clones d'*Atriplex halimus* L. par micropropagation in vitro à partir d'organes végétatifs et reproducteurs. Approches morphogénétique et physiologique. Thèse de Doctorat en Biologie. F.Sc.Tunis, 172p.