

Les incompatibilités de greffe chez les arbres fruitiers

Graft incompatibility in fruit trees

J.L. POËSSEL, M. FAUROBERT, F. ERMEL-FONTAINE

INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes, Domaine St Paul,
Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9
Tél. : 04 32 72 26 78 • Fax : 04 32 72 26 62 • Email: poessel@avignon.inra.fr

Résumé : La greffe demeure une technique essentielle pour la production de plants fruitiers. Cependant les phénomènes d'incompatibilité de greffe limitent fortement l'utilisation de porte-greffes d'espèces différentes de la variété greffée. La typologie de ces incompatibilités de greffes chez les arbres fruitiers est d'abord brièvement présentée ainsi que quelques hypothèses sur leur origine physiologique. Nous présentons ensuite les résultats d'une étude histologique cinétique de la formation de l'union porte-greffe/greffon chez le poirier et l'abricotier, dont l'objectif est de préciser dans quels tissus et à quel stade apparaissent les premières manifestations de l'incompatibilité. Cette étude a permis d'une part, de préciser les étapes successives qui président à l'établissement de la jonction vasculaire et d'autre part, de caractériser les symptômes précoces d'incompatibilité à l'interface porte-greffe/greffon. Les greffes incompatibles sont caractérisées par un retard de la jonction cambiale et par un fonctionnement déficient du néocambium formé à l'interface. Ces résultats montrent que la néoformation du cambium de jonction, deux à trois semaines après greffage, et son fonctionnement ultérieur jouent un rôle essentiel dans la genèse des symptômes d'incompatibilité de greffe localisée.

Mots clés : arbres fruitiers, cambium, compatibilité de greffe, greffe, histologie

Abstract : *Grafting or budding is still an important method to propagate fruit trees. Nevertheless, graft incompatibilities limit greatly the use of rootstocks belonging to a species which is different from the grafted variety. The typology of graft incompatibilities in fruit trees and the main hypotheses about their physiological origin are briefly reviewed. In order to specify when and in which tissues the first symptoms of graft incompatibility occur, a kinetic histological study of the graft union formation was carried out in pear and in apricot. This study made it possible to describe the successive steps leading to the vascular connection in compatible graft and also to detect the first events associated with graft incompatibility. Incompatible grafts were characterised by a delayed cambial connection and by a deficient activity of the neocambium formed at the graft interface. These results show that differentiation of junction cambium, two or three weeks after budding, and its subsequent functioning play a major role in the establishment of localised graft incompatibility.*

Keywords : *fruit trees, cambium, graft compatibility, graft, histology*

1 Introduction

La greffe demeure une méthode horticole essentielle pour la production de plants fruitiers malgré l'apparition de nouvelles techniques (bouturage herbacé ou semi-ligneux, microbouturage *in vitro*) permettant la multiplication sur leurs propres racines des variétés fruitières, souvent réfractaires au bouturage ligneux. La greffe, par la possibilité qu'elle offre d'associer deux génotypes différents, permet de conférer au plant de nouvelles qualités agronomiques comme l'adaptation au sol et la résistance aux parasites telluriques. Elle permet également de moduler certaines caractéristiques de la variété greffée comme sa vigueur, la précocité de sa mise à fruits et la qualité des fruits. Les porte-greffes couramment utilisés peuvent appartenir à la même espèce que la variété fruitière (greffage intraspécifique ou homogreffe) ou à une espèce différente au sein du même genre botanique ou d'un autre genre (greffage interspécifique ou hétérogreffe). Ils peuvent aussi être le résultat d'hybridations interspécifiques. Ainsi le pêcher (*Prunus persica* L. Batsch) ou l'abricotier (*Prunus armeniaca* L.) sont couramment greffés sur prunier (*Prunus domestica* L. ou *Prunus cerasifera* Ehrh.) dans les régions où les sols sont inondables, ces porte-greffes présentant une tolérance à l'asphyxie racinaire nettement supérieure au système racinaire de pêcher ou d'abricotier. De même, le cerisier (*Prunus avium* L.) est fréquemment greffé sur cerisier acide (*Prunus cerasus* L.) ou cerisier Sainte Lucie (*Prunus mahaleb* L.) afin de diminuer la vigueur de l'arbre et de faciliter ainsi la récolte. Enfin, le greffage des variétés de poirier (*Pyrus communis* L.) sur cognassier (*Cydonia oblonga* Mill.), largement utilisé en France, permet d'avancer la mise à fruit de l'arbre et d'améliorer la qualité des fruits produits. Cependant, malgré la considérable variabilité génétique disponible dans les espèces voisines des variétés fruitières et les possibilités importantes qu'offre l'hybridation interspécifique, les combinaisons porte-greffe/greffon sont souvent limitées par des phénomènes d'incompatibilité de greffe, difficiles à prévoir et à diagnostiquer. Ces incompatibilités de greffe ont fait depuis 40 ans l'objet de nombreux travaux de recherches dont nous exposerons brièvement les principaux acquis. Nous présenterons ensuite les principaux résultats obtenus à l'INRA d'Avignon dans le cadre d'une étude histocytologique de la formation de la jonction vasculaire porte-greffe/greffon chez l'abricotier et le poirier. Cette étude avait pour objectif de déceler les manifestations précoces de l'incompatibilité de greffe à l'interface des tissus des deux partenaires et de préciser l'origine physiologique des symptômes observés.

2 Les différents types d'incompatibilité de greffe

2.1 Les incompatibilités d'origine virale

Outre le risque général de transmission de maladies virales lors du greffage, l'infection virale d'un des partenaires de la greffe peut induire des réactions comparables à des phénomènes d'incompatibilité. Ces symptômes qui ne s'expriment spécifiquement que chez certaines associations porte-greffe/greffon peuvent conduire à un dépérissement rapide de celles-ci. C'est par exemple le cas de la grave maladie de la tristeza qui affecte spécifiquement l'oranger doux (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) greffé sur bigaradier (*Citrus aurantium* L.). Elle est due à l'infection de l'oranger doux par un clostérovirus (Citrus Tristeza Virus). De même chez le noyer, le virus du Cherry Leaf Roll induit la maladie de la ligne noire chez les associations *Juglans regia* L./*Juglans nigra* L. alors que les associations *Juglans regia*/*Juglans regia* infectées ne présentent aucun symptôme (Dosba *et al.*, 1990). Enfin chez de nombreuses espèces fruitières comme le poirier ou l'abricotier, des échecs de greffage ou l'apparition de phénomènes d'incompatibilité sont imputables à une infection virale latente du porte-greffe ou du greffon (Lemoine et Michelesi, 1989 ; Marenaud, 1968). Les mécanismes de ces

maladies dites "d'association", probablement liés à une sensibilité au virus différente des partenaires de la greffe, sont encore très mal connus.

2.2 Les incompatibilités d'origine génétique

En l'absence de virus, les phénomènes d'incompatibilité de greffe ne surviennent que lorsque l'on greffe une variété sur une espèce différente ou sur un hybride interspécifique. Si les espèces greffées sont génétiquement proches, l'incompatibilité s'exprime rarement par un échec total du greffage. Le plus souvent, la croissance de la greffe peut sembler normale pendant plusieurs mois ou plusieurs années avant l'apparition des symptômes d'incompatibilité, ce qui rend particulièrement difficile leur diagnostic. De plus, l'incompatibilité ne concerne le plus souvent que certaines variétés, dites "exigeantes" au greffage. C'est par exemple le cas de certaines variétés d'abricotier, incompatibles sur pêcher et sur prunier, ou de variétés de poirier (Williams notamment), incompatibles sur cognassier. Chez les arbres fruitiers, deux types majeurs d'incompatibilité, localisé ou transloqué, ont été définis grâce aux travaux de Herrero à Saragosse en Espagne (1951), et de Mosse à East Malling en Grande Bretagne (1962).

✓ Les incompatibilités de type localisé

L'incompatibilité localisée se traduit par une fragilité mécanique de l'union due à la désorganisation et à la nécrose des tissus de l'interface porte-greffe/greffon (cf Photo n°1). Cette fragilité du point de greffe, peut aboutir à la rupture de l'union en l'absence de tout symptôme externe annonciateur (cf Photo n°2).



Photo n°1 : Symptômes d'incompatibilité localisée au niveau du bois d'une greffe abricotier/pêcher d'un an, lyophilisée et décortiquée : l'interface (→) est ponctuée d'îlots de nécrose qui fragilisent l'union



Photo n°2 : Rupture deux ans après greffage d'une union abricotier/pêcher, symptôme typique de l'incompatibilité de type localisé

L'incompatibilité localisée constitue un problème agronomique grave pour certaines associations poirier/cognassier et abricotier/prunier ou abricotier/pêcher. Ce type d'incompatibilité présente la particularité de pouvoir être surmonté par l'utilisation d'un intermédiaire de greffe compatible avec les deux partenaires (cf Figure n°1). Un intermédiaire de quelques millimètres est suffisant pour obtenir une association compatible. Ceci montre que l'expression de cette incompatibilité ne survient que lors du contact direct des cellules des deux partenaires de la greffe. Cette méthode de production de plants avec intermédiaire est utilisée dans la pratique horticole malgré son coût plus élevé. Une autre

caractéristique de cette incompatibilité de type localisé réside dans l'absence d'influence du sens du greffage sur son expression : une association porte-greffe/greffon exprime les mêmes symptômes d'incompatibilité localisée qu'une association réciproque greffon/porte-greffe (cf Figure n°2).

<u>Incompatibilité transloquée</u>		<u>Incompatibilité localisée</u>
$\frac{V}{PG}$ <i>Association incompatible</i>	Grefe sans intermédiaire	$\frac{V}{PG}$ <i>Association incompatible</i>
$\frac{V}{I}$ $\frac{I}{PG}$ <i>Association incompatible</i>	Grefe avec intermédiaire	$\frac{V}{I}$ $\frac{I}{PG}$ <i>Association compatible</i>

<u>Incompatibilité transloquée</u>		<u>Incompatibilité localisée</u>
$\frac{V}{PG}$ <i>Association incompatible</i>	Grefe normale	$\frac{V}{PG}$ <i>Association incompatible</i>
$\frac{PG}{V}$ <i>Association compatible</i>	Grefe réciproque	$\frac{PG}{V}$ <i>Association incompatible</i>

Figure n°1 : Influence d'un intermédiaire de greffe (I) sur la compatibilité de l'association dans le cas d'incompatibilités de greffe de type transloqué ou localisé. V : variété ; PG : porte-greffe

Figure n°2 : Influence de la position respective du porte-greffe (PG) et de la variété (V) sur la compatibilité de l'association dans le cas d'incompatibilités de greffe de type transloqué ou localisé

✓ Les incompatibilités de type transloqué

Le second type d'incompatibilité, dit de translocation, se rencontre notamment chez certaines combinaisons pêcher/prunier et cerisier doux/cerisier acide. Il se manifeste par un dépérissement de l'arbre malgré la structure anatomique normale du point de greffe. Dans ce cas, l'utilisation d'un intermédiaire de greffe ne permet pas de lever l'incompatibilité (cf Figure n°1). Ceci montre que le contact entre les partenaires de la greffe n'est pas nécessaire à l'expression de l'incompatibilité de greffe et que celle-ci dépend de l'échange de signaux (hormones ou substances toxiques par exemple) entre la partie aérienne et le système racinaire. Par contre, le greffage réciproque du porte-greffe sur le greffon ne provoque pas l'apparition des symptômes d'incompatibilité ce qui indique la polarité des signaux mis en jeu ou la limitation de leur synthèse à certains organes (cf Figure n°2).

2.3 Quelques hypothèses sur les causes biochimiques de l'incompatibilité de greffe

L'origine physiologique de ces incompatibilités demeure mal connue et les mécanismes mis en jeu font l'objet de différentes hypothèses. Les principaux travaux ont impliqué les métabolites secondaires dans l'origine de l'incompatibilité de greffe chez les associations poirier/cognassier et cerisier doux/cerisier acide.

✓ Le rôle des composés cyanogéniques et phénoliques dans l'incompatibilité de type localisée poirier/cognassier

Dans le cas de l'incompatibilité localisée poirier/cognassier, Gur *et al.* (1968) ont suggéré que les nécroses de l'union puissent être dues à l'action toxique du cyanure dégagé par la dégradation d'un composé cyanogénique, la prunasine, contenu dans l'écorce du porte-greffe. La prunasine serait dégradée au niveau de l'interface porte-greffe/greffon par des β -glucosidases de l'écorce de poirier. L'activité de ces enzymes serait stimulée par un composé phénolique, l'arbutine, présent en abondance dans les tissus corticaux du poirier. Les variétés incompatibles sur cognassier seraient celles dont l'écorce contiendrait des teneurs importantes en arbutine. Selon cette hypothèse, la sélection de cognassiers n'accumulant pas de prunasine dans les tissus corticaux permettrait d'obtenir des porte-greffes compatibles avec l'ensemble des variétés de poirier. Cette relation entre teneur en prunasine et incompatibilité du cognassier avec les variétés exigeantes de poirier reste cependant encore à confirmer.

✓ Le rôle des composés phénoliques et des cytokinines dans l'incompatibilité de type transloqué cerisier doux/cerisier acide

Dans le cas de l'incompatibilité cerisier doux/cerisier acide, Treutter et Feucht (1988) à l'Université de Munich ont observé l'accumulation spécifique de prunine juste au-dessus de l'interface porte-greffe/greffon des combinaisons incompatibles. Ce composé phénolique, connu comme étant un inhibiteur de la croissance par son effet antagoniste des auxines, pourrait être à l'origine de la nécrose du phloème et de la perturbation du transfert des assimilats, qui conduisent au dépérissement de l'arbre. La recherche du signal inducteur de l'accumulation de la prunine a mis en évidence le rôle potentiel des cytokinines émises par le système racinaire du porte-greffe. Le degré de compatibilité variable des porte-greffes cerisiers acides avec les variétés de cerisier doux pourrait être lié à des variations qualitatives ou quantitatives dans la synthèse des cytokinines par les racines du porte-greffe.

3 Jonction vasculaire et incompatibilité de greffe

La formation de l'union porte-greffe/greffon est une phase essentielle pour la réussite de la greffe et pour l'obtention d'une association variété/porte-greffe fonctionnelle. Afin de comprendre les mécanismes cellulaires mis en jeu par l'incompatibilité de greffe localisée et afin de préciser à quel stade et dans quels tissus apparaissent les premiers symptômes, nous avons engagé une analyse histocytologique cinétique de la formation de l'union porte-greffe/greffon chez des associations de greffes compatibles et incompatibles (Ermel *et al.*, 1993 ; Ermel *et al.*, 1997 ; Ermel *et al.*, 1999). Cette analyse a été entreprise en parallèle sur deux cas majeurs d'incompatibilité localisée, poirier/cognassier et abricotier/*Prunus spp.* Pour chacun des modèles, des greffes ont été effectuées en serre par une technique de greffe en placage, dite "chip budding" (Hartmann *et al.*, 1990). Quatre combinaisons ont été constituées pour chacun des modèles : une hétérogreffe compatible avec une variété non exigeante au greffage (Passe-crassane/cognassier et Luizet/pêcher x amandier), une hétérogreffe incompatible avec une variété exigeante au greffage (Epine du mas/cognassier et Canino/pêcher x amandier) et deux homogreffes compatibles (poirier/poirier et abricotier/abricotier) avec les deux variétés, exigeante ou non exigeante au greffage. Les unions porte-greffe/greffon ont été prélevées à différentes dates depuis le jour du greffage jusqu'à 5 mois après greffage. Leur structure histologique a été étudiée sur de nombreuses répétitions à l'aide de différentes techniques de préparation et de coloration des coupes. Nous présenterons tout d'abord les différentes étapes de la jonction vasculaire dans le cas de greffes compatibles de poirier et d'abricotier puis nous montrerons les principales différences histologiques caractérisant les combinaisons incompatibles.

3.1 Les différentes phases de la jonction vasculaire

L'établissement de la jonction porte-greffe/greffe, indispensable à la circulation de sève entre les deux partenaires et à la solidité de l'union, est un phénomène actif qui requiert la mise en place d'un tissu de jonction formé conjointement par chacun des partenaires. Ce processus de jonction débute dès la ligature des organes greffés qui met en contact étroit les tissus corticaux, le cambium et, le cas échéant, le bois du greffe et du porte-greffe.

✓ Blessure et couche nécrotique

Lors du prélèvement des organes, une ou plusieurs assises cellulaires sont lésées par les blessures effectuées. Les parois et les contenus de ces cellules mortes forment une couche nécrotique continue qui sépare totalement porte-greffe et greffe et empêche les échanges entre les cellules vivantes (cf Photo n°3). On observe cependant très rapidement une adhésion des tissus qui maintient le contact entre les organes greffés, essentiellement au niveau de l'écorce interne (cambium et phloème). Cette adhésion résulte du ciment formé par les débris cellulaires et pariétaux de la couche nécrotique et par les sécrétions des cellules sous-jacentes. Par contre, au niveau de l'écorce externe, les tissus des deux partenaires ne restent pas jointifs et s'ouvrent sur l'atmosphère ambiante. De même, dans la zone centrale où les tissus lignifiés des porte-greffe et greffe, essentiellement constitués de cellules mortes (fibres et vaisseaux), sont en contact, l'adhésion ne se produit pas.

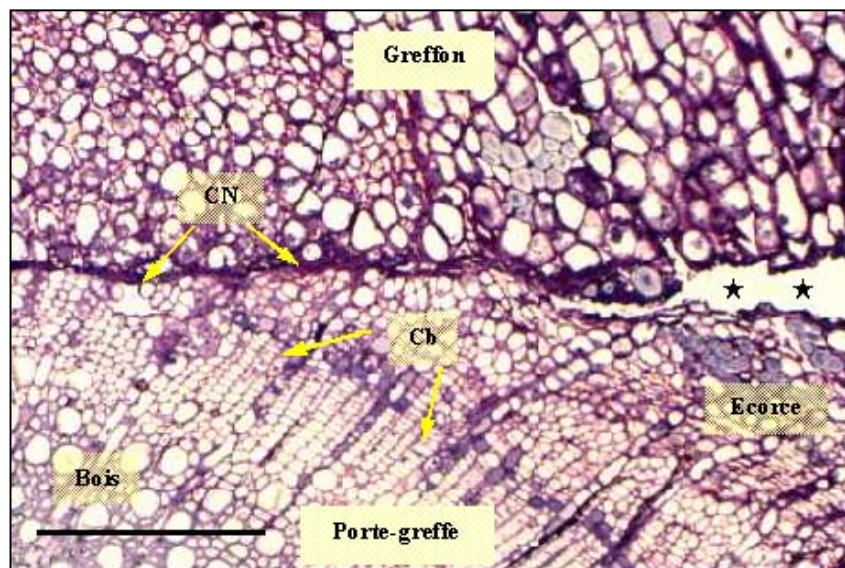


Photo n°3 : Formation de la couche nécrotique (CN) provoquant l'adhésion entre porte-greffe et greffe au niveau de l'écorce interne et du cambium (Cb). Au niveau de l'écorce externe les tissus des deux partenaires sont nettement dissociés et en contact avec l'atmosphère (★). Barre = 100 μ m. Greffe poirier/poirier, 3 jours après greffage. Coupe transversale. Coloration au bleu de toluidine

Prolifération du cal de jonction

Dès les premières heures suivant le greffage, les cellules du porte-greffe et du greffe bordant la ligne de nécrose subissent de profondes modifications, puis commencent à se diviser activement. Cette prolifération cellulaire est nettement visible deux ou trois jours après le greffage. Elle donne naissance

à un cal constitué de cellules peu différenciées, de forme et de taille variables (cf Photo n°4). L'expansion de ce cal formé par les deux partenaires provoque la fragmentation de la ligne de nécrose qui se résorbe ensuite peu à peu. Les premiers contacts entre cellules vivantes du porte-greffe et du greffon peuvent alors avoir lieu. Chez les greffes ligneuses, les divisions cellulaires surviennent essentiellement au niveau de l'écorce interne et dans la zone cambiale. Dans ce cas, à l'intérieur de la greffe, le bois n'engendre qu'une très faible prolifération cellulaire et une lacune apparaît fréquemment entre les parties lignifiées des deux partenaires. Celle-ci se comblera lentement, remplie progressivement par le cal de jonction formé plus à l'extérieur et par la prolifération des cellules parenchymateuses des rayons ligneux. Dans tous les cas, on observe dans ce cal la différenciation de quelques vaisseaux et tubes criblés, non directement dérivés d'un cambium, qui peuvent assurer une première jonction transitoire entre les tissus de chaque partenaire de la greffe.

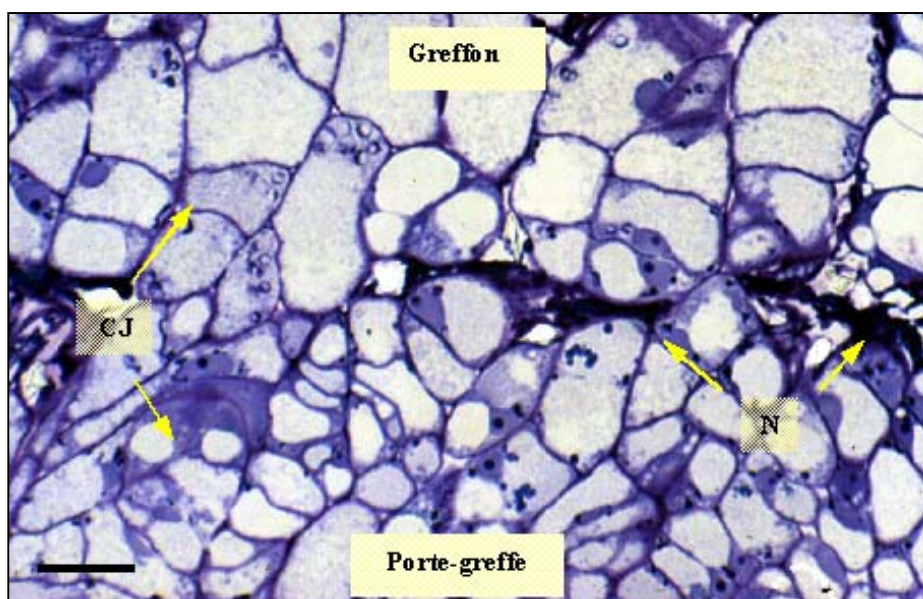


Photo n°4 : Formation du cal de jonction par le porte-greffe et le greffon et dislocation de la couche nécrotique. CJ : cal de jonction ; N : fragments de la couche nécrotique. Noter l'hétérogénéité des cellules formées.

Barre = 10 μ m. Greffe poirier/poirier, 10 jours après greffage. Coupe transversale. Coloration au bleu de toluidine

Formation d'une couche protectrice de suber

Au pourtour de la greffe les tissus blessés de chacun des partenaires ne sont généralement pas en contact et sont donc exposés à l'atmosphère. Dans ces tissus, des divisions cellulaires différentes de celles observées dans le cal de jonction surviennent également quelques jours après greffage. Les mitoses sont profondes, situées quelques assises cellulaires sous la blessure. Les cellules formées se différencient immédiatement pour constituer un néophellogène au lieu d'un cal (cf Photo n°5). Cette assise génératrice, reconnaissable à l'organisation empilée de ses cellules, est à l'origine d'une couche de liège ou suber protégeant les tissus sous-jacents de la déshydratation (cf Photo n°6).

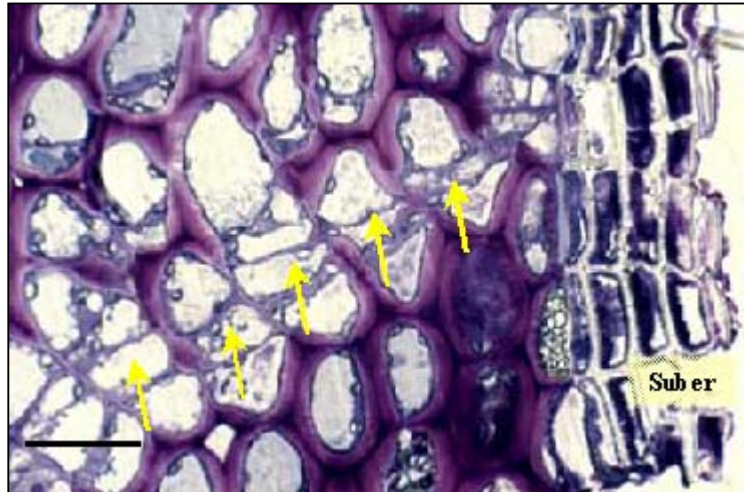


Photo n°5 : Formation d'un néophelloderme dans l'écorce externe du greffon par division de cellules alignées (flèches), situées quelques assises cellulaires sous la blessure.
Barre = 10 μ m. Greffe poirier/poirier, 10 jours après greffage. Coupe transversale. Coloration au bleu de toluidine

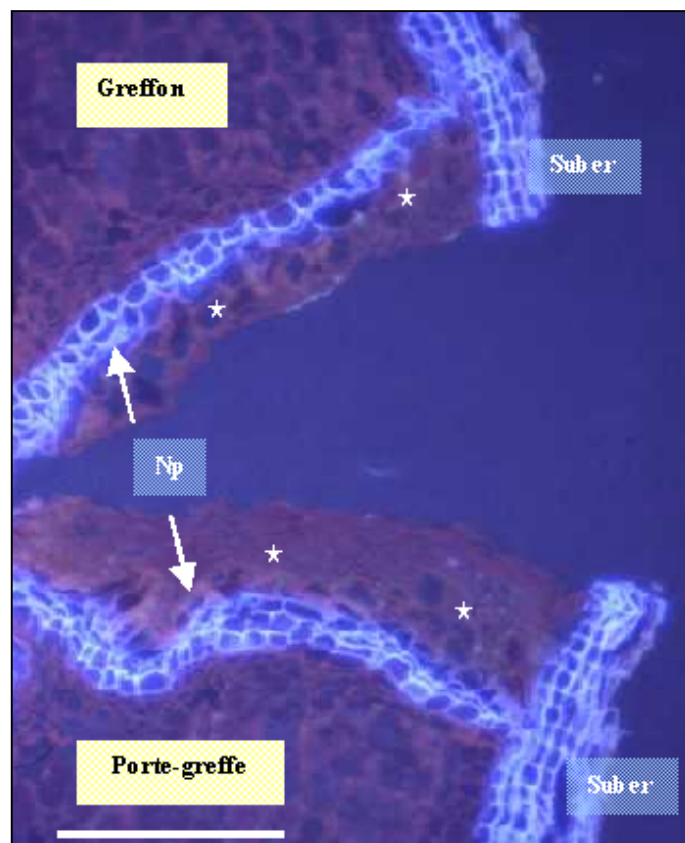


Photo n°6 : Formation par une assise génératrice (néophelloderme : Np) d'un périoderme de blessure subérifié dans la partie externe de l'écorce exposée à l'atmosphère. Ce périoderme peut être distingué par sa fluorescence bleue sous lumière UV. Il rejoint les bords sectionnés des assises subérifiées du porte-greffe et du greffon. Les cellules des tissus exclus par cette assise se lignifient et meurent (★).
Barre = 100 μ m. Greffe poirier/poirier, 10 jours après greffage. Coupe transversale. Observation de l'épifluorescence sous lumière ultraviolette

Néof ormation cambiale et production des tissus vasculaires secondaires

La formation d'un cambium dans le cal de jonction constitue une étape décisive pour la réussite du greffage. Cette formation débute à partir des cambiums sectionnés de chacun des partenaires. Elle se manifeste par l'apparition d'un alignement de cellules cambiales reconnaissables à leur aspect empilé et à leur section rectangulaire en coupe transversale (cf Photo n°7). La jonction s'effectue au terme d'un cheminement parfois contourné qui dépend fortement de l'ajustement des organes au moment du greffage. Ce raccordement, qui se produit environ dix à vingt jours après greffage, permet alors la production des tissus vasculaires secondaires (cf Photo n°8). Le bois et le phloème ainsi formés à l'interface par le cambium de jonction assurent l'établissement des flux de sève entre porte-greffe et greffon et garantissent la solidité de l'union.

En conclusion, les différentes étapes du processus de jonction vasculaire se déroulent sur une période de trois semaines après le greffage aussi bien chez le poirier que chez l'abricotier. Elles sont similaires au processus de formation de l'union porte-greffe/greffon déjà décrit chez différentes plantes ligneuses ou herbacées (Mc Cully, 1983 ; Moore, 1983). En effet chez les différentes plantes étudiées, l'ensemble de ce processus de jonction se déroule généralement sur 10 à 30 jours, quel que soit le type de greffe et quelle que soit la période de l'année à laquelle la greffe est pratiquée. La croissance du ou des bourgeons greffés peut alors avoir lieu immédiatement ou être différée de plusieurs mois dans le cas des greffes à œil dormant. Remarquons que la présence d'un bourgeon n'est pas indispensable à l'établissement de la jonction : en effet la greffe d'écorce sans bourgeon est couramment pratiquée pour les indexages biologiques sur plantes indicatrices. Si du point de vue structural ces phases successives du raccordement sont maintenant bien caractérisées chez différentes plantes, nous possédons encore très peu d'informations sur ces événements aux niveaux cellulaire et moléculaire, ainsi que sur les facteurs qui les régulent.

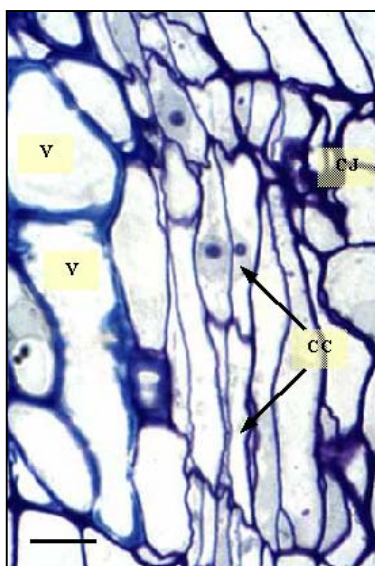


Photo n°7 : Formation dans le cal de jonction (CJ) de cellules cambiales (CC) de forme rectangulaire en section transversale. Ce néocambium donne naissance à des vaisseaux lignifiés (V). Barre = 10 μ m. Greffe poirier/poirier, 10 jours après greffage. Coupe transversale. Coloration au bleu de toluidine

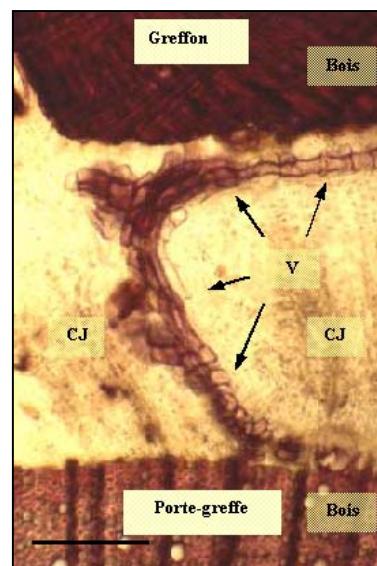


Photo n°8 : Formation par le néocambium dans le cal de jonction (CJ) des premiers vaisseaux lignifiés (V) qui permettent d'établir la continuité vasculaire entre porte-greffe et greffon. Barre = 100 μ m. Greffe poirier/poirier, 22 jours après greffage. Coupe transversale. Coloration au phloroglucinol chlorhydrique

3.2 Les symptômes précoces d'incompatibilité de greffe localisée

L'analyse comparative des unions compatibles et incompatibles nous a montré que, aussi bien chez l'abricotier que chez le poirier, les premières étapes de la jonction vasculaire (formation de la couche nécrotique, prolifération du cal de jonction et formation du périderme de blessure) se déroulent de manière similaire quelle que soit la compatibilité de l'association considérée. L'interface des associations incompatibles n'est notamment pas le siège de nécroses importantes différentes de celles occasionnées par les blessures provoquées lors du greffage. Cette observation ne va pas dans le sens de l'hypothèse d'un phénomène de toxicité dû à la libération de substances toxiques telles que le cyanure (hypothèse de Gur *et al.*, 1968). Les premières manifestations de l'incompatibilité surviennent plus tardivement lors de l'apparition du néocambium dans le cal de jonction une quinzaine de jours après greffage. Cependant les différences histologiques entre combinaisons de greffe sont ténues et difficilement perceptibles en raison de la variabilité importante de la structure histologique au sein d'une greffe et entre greffes d'une même combinaison. La mise en évidence de ces différences liées aux symptômes précoces de l'incompatibilité nécessite l'observation de nombreuses coupes histologiques et l'utilisation de techniques statistiques appropriées. Pour différentes dates de prélèvement après greffage (15, 22, 50 et 150 jours après greffage) nous avons noté systématiquement une douzaine de coupes histologiques de chaque combinaison de greffe à l'aide de plus d'une trentaine de variables histologiques décrivant la structure histologique de l'union. Ces données histologiques ont été analysées par Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) qui permet de synthétiser l'ensemble de l'information recueillie. Quelle que soit la date de prélèvement, nous avons pu observer une répartition similaire des échantillons histologiques sur le plan principal des différentes AFC (cf Figures n°3 et 4).

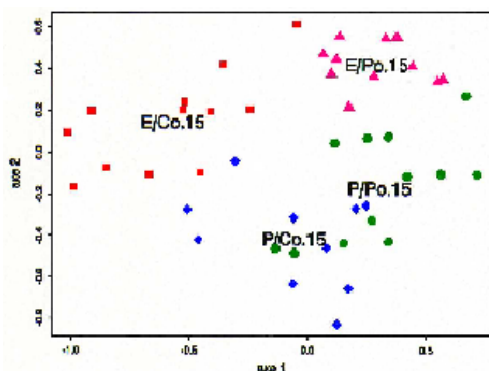


Figure n°3 : Plan principal de l'analyse factorielle des correspondances (AFC) réalisée à partir des données histologiques d'unions compatibles poirier/porrier (E/Po et P/Po) et poirier/cognassier (P/Co) et d'unions incompatibles poirier/cognassier (E/Co) 15 jours après greffage. On constate un échelonnement sur l'axe 1 des échantillons histologiques selon la combinaison de greffe, ce qui traduit leurs caractéristiques histologiques différentes. Les échantillons de la combinaison incompatible sont nettement situés sur la gauche du plan. Le retard de la formation des néocambiums et de leur jonction est à l'origine de la position des échantillons incompatibles

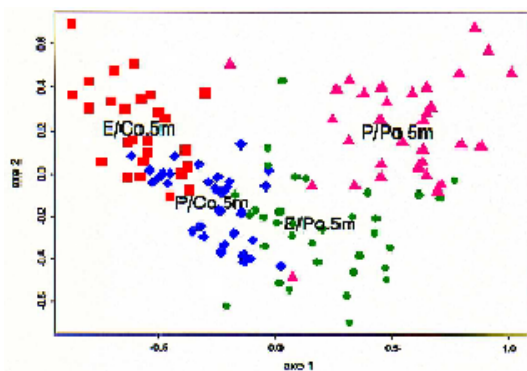


Figure n°4 : Plan principal de l'AFC réalisée à partir de données histologiques d'unions compatibles poirier/porrier (E/Po et P/Po) et poirier/cognassier (P/Co) et d'unions incompatibles poirier/cognassier (E/Co) 5 mois après greffage. On constate, comme 15 jours après greffage, un échelonnement sur l'axe 1 des échantillons selon la combinaison de greffe. Les échantillons de la combinaison incompatible sont nettement situés sur la gauche du plan. L'activité déficiente du cambium de jonction et la faible épaisseur de bois formé sont à l'origine de la position des échantillons incompatibles

Les échantillons sont regroupés selon leur appartenance à une même combinaison de greffe, ce qui indique que les échantillons d'une même combinaison possèdent des caractéristiques histologiques communes. L'échelonnement sur l'axe principal des combinaisons de greffe est identique quelle que soit la date de prélèvement. L'hétéogreffe incompatible se distingue nettement des homogreffes, l'hétéogreffe compatible se plaçant dans une position intermédiaire. Cet échelonnement reflète donc bien la différence de compatibilité entre les différentes associations.

Nous avons recherché les variables histologiques à l'origine de la discrimination entre combinaisons de greffe. La plupart de celles-ci sont liées à la différenciation et à l'activité du cambium de jonction. Celui-ci se forme avec retard dans les associations incompatibles et la connexion vasculaire se produit plus tardivement que dans les greffes compatibles. Après la jonction, le néocambium de l'interface montre une activité déficiente, donnant naissance à un bois de faible épaisseur présentant des anomalies dans la différenciation des parois et dans l'orientation des cellules. La formation du cambium de jonction et son activité ultérieure semble donc constituer un élément clé dans la genèse du phénomène d'incompatibilité localisée. Ces symptômes apparaissent de manière discrète dès la troisième semaine après greffage. L'activité déficiente du cambium détermine cependant une accumulation de défauts structuraux de l'interface qui débouchent sur l'apparition de symptômes de plus en plus prononcés, incluant les nécroses caractéristiques de l'interface qui constitueraient donc des conséquences secondaires et tardives de l'anomalie du fonctionnement cambial.

Ces résultats obtenus dans les deux cas d'incompatibilité localisée étudiés, poirier et cognassier, devront être confortés par des études complémentaires sur d'autres combinaisons porte-greffe/greffon présentant des degrés variables de compatibilité. Elles peuvent permettre de mieux cerner l'origine physiologique de l'incompatibilité de greffe localisée et de proposer des méthodes de diagnostic précoce utilisable pour l'amélioration génétique des porte-greffes d'arbres fruitiers.

4 Conclusion

Les incompatibilités de greffe chez les arbres fruitiers ont fait l'objet depuis de nombreuses années de travaux de recherches qui ont fait progresser la connaissance de ces phénomènes, notamment sur le plan agronomique. Cependant les causes physiologiques demeurent mal connues et les travaux de recherches pluridisciplinaires actuellement engagés à l'INRA et par différents instituts de recherches en Europe devraient permettre de déboucher sur des méthodes permettant de prévoir et de diagnostiquer précocement ces incompatibilités de greffe. Il sera alors possible de mieux exploiter la variabilité génétique considérable disponible pour l'amélioration et la sélection des porte-greffes fruitiers.

Bibliographie

Dosba F., Lansac M., Germain E., Mazy K., Rovira M., 1990, Le virus du Cherry Leaf Roll (CLRV) : relation avec le dépérissement du Noyer et comportement de différentes espèces ou hybrides interspécifiques de *Juglans*, *Fruits*, 45, 171-175

Ermel F.F., Catesson A.M., Poëssel J.L., 1993, Néoformation cambiale et incompatibilité de greffe chez les associations poirier/cognassier, *Acta Botanica Gallica*, 140, 363-370

Ermel F.F., Poëssel J.L., Faurobert M., Catesson A.M., 1997, Early stock/scion junction in compatible and incompatible pear/pear and pear/quince grafts: a histological study, *Annals of Botany*, 79, 505-515

Ermel F.F., Kervella J., Catesson A.M., Poëssel J.L., 1999, Localized graft incompatibility in pear/quince (*Pyrus communis/Cydonia oblonga*) combinations : multivariate analysis of histological data from 5-month-old grafts, *Tree Physiology*, 19, 645-654

Gur A., Samish R.M., Lifshitz E., 1968, The role of the cyanogenic glycoside of the Quince in the incompatibility between Pear cultivars and Quince rootstocks, *Horticultural Research*, 8, 113-134

Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T. Jr., 1990, *Plant propagation, principles and practices*. Fifth edition : Prentice-Hall International Editions, USA, 647p

Herrero J., 1951, Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees, *Journal of Horticultural Science*, 26, 186-237

Lemoine J., Michelesi J.C., 1989, Incidence de quelques maladies de dégénérescence sur l'incompatibilité d'hétéogreffe Poirier/Cognassier, *L'Arboriculture Fruitière*, 324, 41-42

McCully M.E., 1983, Structural aspects of graft development, in : Moore R.(Eds), *Vegetative compatibility responses in plants*, Waco, Texas, Baylor university press, 71-88

Marenaud C., 1968, Mise en évidence, sur l'espèce Abricotier d'une incompatibilité intraspécifique due à la présence d'un virus du type chlorotic leaf spot, *Annales des Epiphyties*, 19, 225-245

Moore R., 1983, Physiological aspects of graft formation, in : Moore R. (Eds), *Vegetative compatibility responses in plants*, Waco, Texas, Baylor University press, 89-106

Mosse B., 1962, *Graft incompatibility in fruit trees*, Technical communication n°28, Commonwealth Agricultural Bureaux, England, 36 p

Treutter D., Feucht W., 1988, Accumulation of the flavonoid prunin in *Prunus avium/P. cerasus* grafts and its possible involvement in the process of incompatibility, *Acta Horticulturae*, 227, 74-77