

FORMATION DE LA FLEUR CHEZ LE CROCUS A SAFRAN (*C. sativus* L.). ROLE DE LA TEMPERATURE

Rosa V. Molina, Amparo García-Luis, Virginia Coll, Carla Ferrer, Miguel Valero,
Yolanda Navarro and José L. Guardiola
Departamento de Biología Vegetal
Universidad Politécnica
46071-Valencia
Espagne

Mots clés : dormance, initiation florale, floraison, safran, croissance des tiges

Extraits:

Les cormus de remplacement nouvellement formés de safran (*Crocus sativus* L.) n'ont pas d'exigences en froid, mais la levée n'a lieu qu'après une période de maturation. La levée peut être accélérée par un court séjour à 30°. La croissance des tiges se produit à toute température entre 1 et 30°. La température optimale pour la croissance des tiges (23 à 25°) s'avère aussi optimale pour l'initiation florale. Aucun primordium floral n'est présent dans les bourgeons au repos. L'organogénèse florale se produit tôt en début d'été. La température optimum pour la sortie des fleurs (17°) est notablement inférieure à celle de l'organogénèse. Les différences de température de l'air expliquent les différentes époques d'initiation de la fleur de safran selon les sites. La disponibilité en eau joue un rôle moins important, si rôle il y a, sur la formation de la fleur. Stocker les cormus à une température adéquate peut permettre de contrôler et d'allonger la période de floraison du safran.

INTRODUCTION

Crocus sativus est une géophyte à floraison d'automne à comportement d'antéfloraison (l'émergence des feuilles coïncide avec la floraison ou la suit de peu). L'activité photosynthétique des feuilles pendant l'hiver et les premiers mois du printemps contribue à la formation des cormus de remplacement à la base des tiges. Les feuilles fanent à l'approche de la saison sèche, et durant la fin du printemps et l'essentiel de l'été les plantes ne montrent aucune croissance d'organes aériens ou de racines. Cet état est habituellement décrit en horticulture comme "dormance", terme qui peut être trompeur car des divisions se produisent à ce moment dans les méristèmes apicaux des bourgeons apparemment dormants. L'initiation florale se produit pendant cette période. Dans les cormus formés à la base des tiges sans fleurs, la formation des fleurs est habituellement limitée au bourgeon apical, et dominant. Dans les cormus formés à la base d'une tige florifère, la formation des fleurs peut se produire dans deux ou trois bourgeons portés par l'apex (Molina et al., 2004d). Les rares descriptions publiées des stades précoces de l'initiation florale montrent de grandes différences de dates. Ceci se produit en Mars en Azerbaïdjan (Milyaeva et Azizbekoba, 1978) et en Israël (Greenberg-Kaslasi, 1991), et en Juillet au Cachemire (Koul et Farook, 1984). Greenberg-Kaslasi (1991) a suggéré que le calibre du cormus et les variations saisonnières conditionnent la différence des dates de transition, mais le rôle de ces facteurs n'a pas fait l'objet d'une expérimentation critique. Est particulièrement fâcheux le défaut d'informations sur le rôle de la température sur la formation des fleurs et la floraison (Negbi et al., 1989; Chrungoo, 1992). Dans le présent rapport, nous résumons nos récents travaux sur l'effet de la température sur l'initiation florale et la floraison du safran. Nous présentons également une description détaillée de l'ontogénèse florale, et les caractéristiques des différents stades. Un compte-rendu plus détaillé de ce travail est en cours de publication par ailleurs (Molina et al., 2004a, b, c).

ou d'hypothermie

MOYENS ET METHODES

Les expérimentations ont été réalisées en utilisant des cormus de safran (*Crocus sativus* L) collectés à Quero, Tolède, Espagne. La caractérisation de l'ontogénèse florale a été réalisée en relevant (arrachant) périodiquement des cormus pendant l'été. Des cormus de calibre uniforme (35 mm de diamètre) ont été choisis.

Après suppression des paraphylles protectrices, l'apex de la tige a été examiné à la loupe binoculaire. Une détermination plus poussée de l'initiation florale a été réalisée par l'observation au microscope optique de coupes longitudinales à travers la partie centrale de l'apex, et en observant l'apex mis à nu (c.-à-d. après suppression des restes de la base des cataphylles protectrices) au microscope électronique à balayage. Les modifications des apex de ces cormus ont été comparées à celles de cormus de 15 mm de diamètre, inaptes à la floraison. Le traitement des cormus dans les expériences réalisées pour déterminer l'influence de la température sur la formation de la fleur est celui décrit précédemment (Molina et al., 2004b). En résumé, les cormus ont été relevés peu après la sénescence des feuilles (début Juin) les restes du cormus mère enlevés, et les nouveaux cormus de remplacement séparés et triés. Les cormus de remplacement nettoyés ont été trempés dans une solution à 1% de prochloraze pour prévenir les contaminations par moisissures, séchés immédiatement par ventilation mécanique, et stockés pendant 3-4 jours sous abri à température ambiante. L'initiation florale a été étudiée en utilisant des cormus de 30 mm de diamètre. Pour déterminer l'influence de la température sur l'initiation florale, les cormus ont été placés sur une couche de graviers purs dans des plateaux en plastique et incubés dans le noir à la température voulue dans une atmosphère à 85% d'hygrométrie relative. Après la durée désirée d'incubation, les cormus sont humectés et mis à fleurir à la lumière à 17°. Pour déterminer l'influence du site sur l'ontogénèse des plantes, les cormus du même lot sont plantés à quatre emplacements à climats contrastés.

RESULTATS ET COMMENTAIRES

Croissance des tiges

Pendant les derniers stades de la formation des cormus de remplacement et peu après fanaison du feuillage, les méristèmes apicaux des bourgeons ne montrent pas de croissance visible. Ces bourgeons au repos ont l'apex protégé par une gaine de cataphylles (fig. 1). La taille des apex de tiges (qui à ce moment sont des méristèmes nus sans primordia foliaires) aussi bien que celle des gaines des cataphylles sont plus grandes chez les cormus de gros calibre (et potentiellement aptes à fleurir) que chez les cormus plus petits (fig. 2)

Chez les cormus de gros calibre, les divisions cellulaires au niveau du méristème et la croissance ultérieure des tiges précèdent légèrement la croissance des cataphylles (fig. 2). Cependant, la pousse ultérieure plus rapide des cataphylles assure la formation d'un passage protégé et non obstrué pour l'émergence de la fleur au-dessus du sol. Division cellulaire et croissance des cataphylles se produisent plus tôt chez les gros calibres que chez les plus petits (fig. 2). Le 17 Juillet, la taille des cataphylles des gros cormus atteignait 2 mm de long. Une augmentation notable de la hauteur de l'apex de tige était déjà mesurable sur ces cormus 2 semaines plus tôt (le 3 Juillet).

Chez les petits cormus, aucune croissance des cataphylles ou de la tige n'était détectable fin Juillet. Ce n'est devenu visible dans les lots testés qu'à mi-Août (fig. 2)

Les bourgeons quiescents n'ont pas montré de besoins en froid, et étaient capables de pousser dans une large gamme de températures. Les cormus conservés à des températures juste au-dessus du gel ont eu des croissances très faibles (1-2 °C; Molina et al., 2004c). La croissance des tiges augmente avec la température jusqu'à 23° (Molina et al., 2004d). La croissance des tiges à 23-25°C. a été plus rapide qu'à 30°C. (Molina et al., 2004d).

La durée de croissance des tiges de cormus incubés en chambre chaude à une température constante de 25°C. est montrée en Fig. 3. Il a fallu attendre un délai d'un mois avant de détecter la croissance en longueur des cataphylles. Molina et al. (2004a; 2004b) ont montré que cette période d'attente s'allongeait à deux mois quand les cormus étaient relevés et forcés à une date trop précoce. Ces auteurs ont également trouvé qu'une durée de 20 jours de traitement à la chaleur raccourcissait notablement la durée de cette période d'attente et accélérerait la croissance des tiges et la floraison.

Quand on incube à température constante (25°C.) la longueur des cataphylles augmente de manière linéaire en fonction du temps d'incubation (Fig. 3). Le taux de croissance dans ces conditions d'environnement pour des bulbes relevés fin Juin a été identique à celui relevé au champ dans les zones traditionnelles de culture du safran en Espagne (Molina et al., 2004d). Ceci n'est pas surprenant puisque la température du sol de Juin à mi-Septembre se situait dans fourchette 23-25° les années des essais.

Initiation florale

Aucun organe floral n'était présent dans les méristèmes au repos. L'initiation florale a eu lieu tôt en été pendant les premiers stades de croissance caulinaire, et a été modulée par la température. L'incubation des cormus à 17-30°C. permet la formation des fleurs.

La température optimum de formation des fleurs est de 23-25°C.. A cette température le niveau d'initiation florale est maximum (Molina et al. 2004d). Au moins 50 jours d'incubation à cette température sont requis pour la formation d'un nombre maximum de fleurs ((Molina et al. 2004b). Les cormus incubés à 17°C. ont formé au plus une fleur chacun. Dans la plupart de nos expérimentations nous avons obtenu 2,5 à 3 fleurs par cormus. Chez les cormus les plus gros que nous avons utilisés pour notre travail, nous avons observé la formation de plus de 7 fleurs pour un seul cormus.

Les principaux stades de différenciation florale pour des cormus cultivés en conditions de culture au champ à Albacete, Espagne, sont montrés à la figure 4. La durée du processus d'initiation florale a été identique chez ces cormes et chez ceux illustrés à la figure 3, cormus incubés en chambre de culture à 25°C.. Un intervalle de 30 jours sépare l'initiation foliaire (début Juillet) de l'initiation du gynécée (fin Août).

La séquence d'organogénèse dans l'apex de tige se déroule comme suit:

1. Initiation foliaire (fleur au stade 2).
2. Initiation des bractées (fleur au stade 4).
3. Initiation des étamines (fleur au stade 6).
4. Initiation des tépales (fleur au stade 8). Trois des tépales se forment à côté et à l'extérieur des primordia d'étamines. Les trois tépales supplémentaires se forment dans les intervalles du verticille des primordia d'étamines. (Figure 4F).
5. Formation du gynécée (fleur au stade 10).

Dans les bourgeons formant plusieurs fleurs, la première fleur en formation (et en croissance) apparaît à l'extrémité de l'apex de la tige, et provoque l'arrêt de fonctionnement du méristème. Les fleurs supplémentaires se forment plus bas. Ces fleurs sont apparemment issues de bourgeons axillaires de feuilles (Figure 5). Chacune de ces fleurs forme des bractées (Figure 5).

Emergence des fleurs

L'incubation des cormus à haute température trop longtemps provoque l'avortement des fleurs. C'est vrai aussi pour une incubation des cormus à la température optimum d'induction florale (23-15°C). L'incubation à ces températures pendant plus de 150 jours entraîne une réduction du nombre de fleurs et certains primordia avortent (Molina et al., 2004b). La température optimum pour la sortie des fleurs est d'environ 17°C. .

Pendant toutes les périodes à partir du remplissage des cormus de remplacement, la croissance des tiges semble indépendante de la disponibilité en eau..

Avec des cormus placés en atmosphère à 85% d'hygrométrie relative, la croissance des tiges continue au-delà de la sortie des fleurs. Nous pouvons seulement montrer un effet marginal et indirect de la disponibilité en eau sur l'émergence des fleurs. La formation des racines, qui dépend strictement de la disponibilité en eau, augmente sensiblement la taille des fleurs mais n'a pas d'effet sur la date de floraison (Molina et al., 2004b). D'autre part, la disponibilité en eau conditionne la croissance des feuilles. En accord avec Plessner et al. (1989), nous avons découvert que pour des cormus non arrosés la croissance des feuilles était retardée et la floraison précède la foliaison (fig. 6).

CONCLUSIONS

Les résultats présentés ici comblent des lacunes dans la connaissance scientifique du safran. Ils montrent que la température est le principal facteur déterminant le taux de croissance des tiges, l'initiation florale et la sortie des fleurs. Nous avons également montré que la température optimum pour la sortie des fleurs est plus basse que pour leur formation. Ces faits expliquent les différences de calendrier d'initiation florale dans des endroits à climats contrastés. L'initiation florale apparaît quand les températures s'élèvent en fin d'été au-dessus de 20°C. Elle se produit plus tôt en climats chauds (Jerez et Valence; fig. 7). Dans ces zones, les températures trop élevées d'automne retardent la floraison par rapport aux zones de culture traditionnelles du safran (Albacete et Ségovie). La sortie des fleurs se produit quand la température de l'air chute en-dessous de 16°C.(fig. 7).

Ces connaissances autorisent à volonté la programmation de la floraison du safran. Les protocoles de forçage de la floraison depuis début Septembre jusqu'à fin Mai ont été décrits (Molina et al., 2004a).

REMERCIEMENTS

Cette recherche a été menée grâce à un contrat de recherche avec la Compagnie Générale du Safran d'Espagne. Nous remercions Mr Agustin Escandon, Directeur Général pour son aide et son autorisation de publier ces résultats.

Bibliographie

- Chrungoo, N.K. 1992. Concepts of dormancy regulation in vegetative plant propagules: a review. *Environ. Exp. Bot.* 32: 309- 318.
- Greenberg-Kaslasi, D. 1991. Vegetative and reproductive development in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.) M. Sc. Thesis. The Hebrew University of Jerusalem. Quoted by Negbi (1999).
- Koul, K.K. and Farooq, S. 1984. Growth and differentiation in the shoot apical meristem of the saffron plant. (*Crocus sativus* L.). *J. Indian Bot. Soc.* 63: 153-160.
- Milyaeva, E.L. and Azizbekova, N.S.H. 1978. Cytophysiological changes in the course of development of stem apices of saffron crocus. *Soviet Plant Physiol.* 25: 227-233.
- Molina, R.V., García-Luis, A., Valero, M., Navarro, Y. and Guardiola, J.L. 2004a. Extending the harvest period of saffron. *Acta Hort.* (in press).
- Molina, R.V., Valero, M., Navarro, Y., García-Luis, A. and Guardiola, J.L. 2004b. The effect of time of corm lifting and duration of incubation at inductive temperature on flowering in the saffron plant (*Crocus sativus* L.). *Sci. Hort.* (in press).
- Molina, R.V., Valero, M., Navarro, Y., García-Luis, A. and Guardiola, J.L. 2004c. Low temperature storage of the corms extends the flowering season of the saffron plant (*Crocus sativus* L.). *Sci. Hort.* (in press).
- Molina, R.V., Valero, M., Navarro, Y., Guardiola, J.L. and García-Luis, A. 2004d. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). *Sci. Hort.* (in press).
- Plessner, O., Negbi, M., Ziv, M. and Basker, A. 1989. Effects of temperature on the flowering of the saffron crocus (*Crocus sativus* L.): Induction of hysteranthy. *Isr. J. Bot.* 38:1-7.
- Negbi, M. 1999. Saffron Cultivation: Past, Present and Future Prospects. p., 1-17. In: M. Negbi (ed.), *Saffron (Crocus sativus L.)*. Harwood, Amsterdam.
- Res, A.R. 1992. *Ornamental Bulbs, Corms and Tubers*. C.A.B. International, Wallingford, U.K.

Illustrations



Fig. 1: Section longitudinale d'un bourgeon dormant montrant l'apex composé d'un méristème nu, sans organes latéraux, protégé par une enveloppe de cataphylles

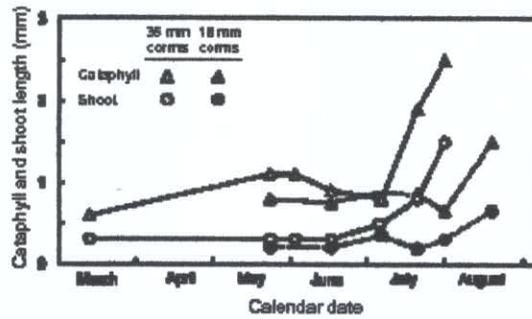


Fig. 2: Longueur des cataphylles (triangles) et des tiges (ronds) dans les bourgeons apicaux de cornus de 35 mm (centre vide) et de 18 mm (centre noir). Les mesures couvrent la période depuis la fin de remplissage des cornus jusqu'au début de la croissance du bourgeon

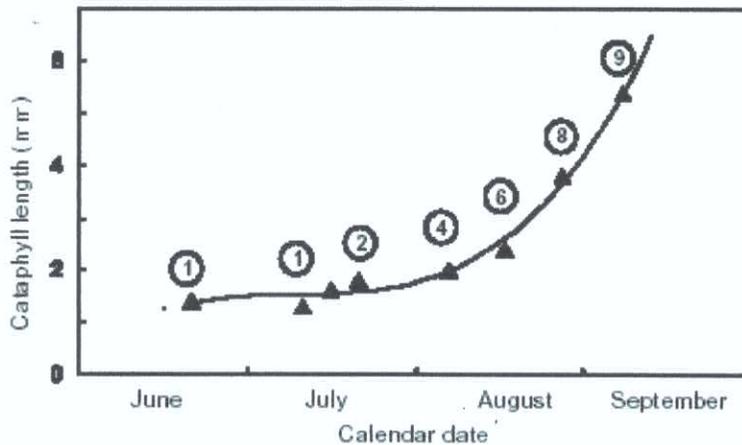


Fig. 2: Longueur des cataphylles et morphogénèse florale dans les bourgeons apicaux de cornus "relevés" début Juin et incubés à 25°. Le stade de développement de la fleur dans les bourgeons est indiqué dans les cercles, en utilisant les numéros du texte.

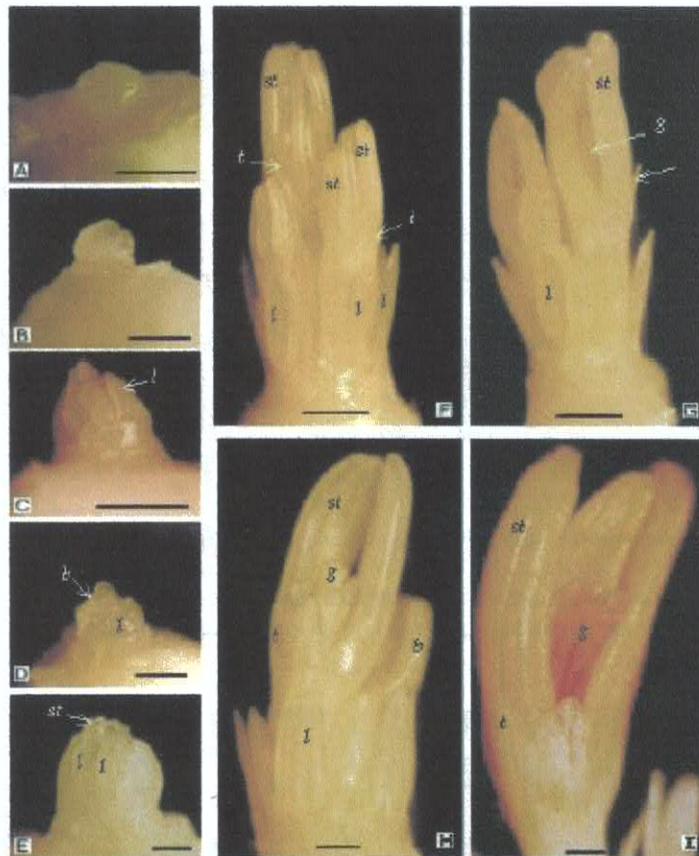


Fig. 4: Photographies à faible grossissement des apex de tiges dégagés (cataphylles supprimées) à différents stades de développement.

Les numéros de stades utilisés dans le texte sont aussi indiqués.

A: Bourgeon dormant photographié le 25 Juin. Aucun organe latéral n'est encore initié (stade floral 1).

B: Apex de tige en forme de dôme photographié le 13 Juillet. Les primordia foliaires sont en cours de différenciation sur les côtés du méristème (stade floral 2).

C: Apex de tige photographié le 20 Juillet. La base du méristème en dôme est recouverte des primordia foliaires en développement (stade floral 3).

D: Apex de tige photographié le 25 Juillet, au moment où les bractées sont initiées au bord du méristème (stade floral 4).

E: Initiation des étamines, photographiée le 6 Août (stade floral 6)

F: Bourgeon avec trois fleurs en développement photographié le 14 Août. Les étamines sont plus longues que les feuilles, conséquence de l'antéfloraison de cette espèce. Sur la face dorsale des étamines, le premier verticille de tépales est déjà initié chez deux des fleurs (flèche; stade floral 8).

G: Apex de tige avec deux fleurs en développement photographié le 20 Août. Le gynécée est déjà initié (flèche; stade floral 10).

H: Suite du développement de la fleur, dont certaines parties croissent plus vite que les feuilles (1).

I Le gynécée a atteint la moitié de la longueur des étamines. Le style et les stigmates en développement montrent une couleur rouge caractéristique.

b= bractée, g= gynécée, l= feuille, st= étamine, barre d'échelle = 0,5 mm.

Source: Molina et al. (2004 d).



Fig. 5: A gauche, coupe longitudinale d'une extrémité de tige, montrant deux primordia floraux protégés par des bractées
 A droite, vue au microscope à balayage d'un apex de tige avec trois fleurs en développement
 Les bractées emballant les deux fleurs du premier plan sont nettement visibles.



Fig. 6: Le comportement d'antéfloraison de cormus laissés sur la paille du laboratoire. Ces cormus ont fleuri en même temps que ceux plantés à l'extérieur, et les fleurs ont émergé longtemps avant les feuilles. Chez les cormus arrosés avant le forçage des fleurs, on constate un comportement de sub-antéfloraison, les feuilles étant visibles au moment de l'ouverture des fleurs, mais de taille inférieure à la gaine de cataphylles. Ceci s'est produit chez les cormus soumis à une floraison forcée sous nos conditions expérimentales (centre). Chez les cormus convenablement arrosés poussés en pleine terre, les feuilles sont déjà développées au moment de la floraison (A droite). Photo de droite: courtoisie de "Safran de la Mancha"

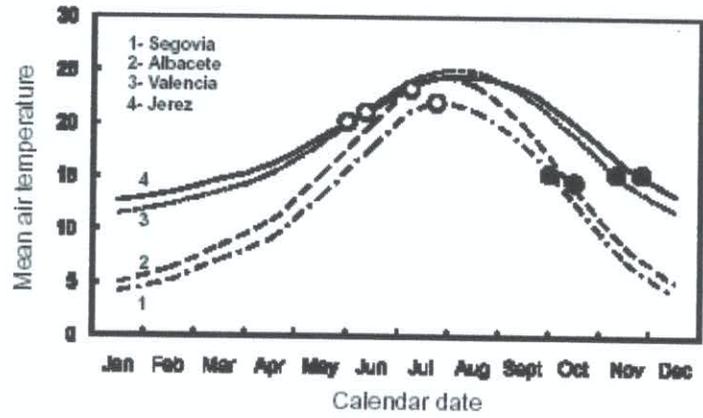


Fig 7: Montrant mois par mois la température de l'air, la période de l'initiation florale (ronds blancs) et de la sortie des fleurs (ronds noirs) dans quatre sites d' Espagne à climats contrastés. Albacete et Ségovie sont des zones traditionnelles de production de safran.