



Induction de néoformations caulinaires chez des *Weigela Thunb. hybrides* cultivés in vitro

Michel Duron

► To cite this version:

Michel Duron. Induction de néoformations caulinaires chez des *Weigela Thunb. hybrides* cultivés in vitro. *Agronomie*, 1981, 1 (10), pp.865-868. <hal-00884206>

HAL Id: hal-00884206

<https://hal.science/hal-00884206v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Induction de néoformations caulinaires chez des *Weigela* Thunb. hybrides cultivés *in vitro*.

Michel DURON

I.N.R.A., Station d'Arboriculture fruitière — Beaucouzé — F 49000 Angers.

RÉSUMÉ

Caulogenèse,
Weigela,
Culture *in vitro*.

Après avoir obtenu les premières néoformations caulinaires en culture *in vitro* d'entre-nœuds de *Weigela* Thunb. hybride, cultivar « Eva Rathke », nous avons montré que les réponses varient suivant la position de l'entre-nœud sur la plante. Sur un même milieu de culture, 5 cultivars expriment des aptitudes nettement différentes à l'initiation des bourgeons (95 p. 100 environ des explants de « Eva Rathke » réagissent au stimulus organogène). La réaction est enregistrée précocement puisque, après 3 jours, 25 p. 100 des explants portent des cellules orientées vers la caulogenèse.

SUMMARY

Caulogenesis,
Weigela,
In vitro culture.

Bud neoformation on stem explants from in vitro grown plantlets of Weigela Thunb.

Bud neoformations have been induced during preliminary experiments on stem internodes of *Weigela* plantlets cultivar « Eva Rathke » grown *in vitro*. The number of explants giving rise to organogenesis depends on the position of the explant on the mother plant. On a same medium bud neoformation is closely related to the genotype. Bud initiation is quick. Three days after the beginning of the culture, the caulogenesis is induced in 25 p. 100 of the explants of the cv. « Eva Rathke ».

I. INTRODUCTION

Les techniques mettant en œuvre la culture *in vitro* ont été largement développées au cours de ces dernières années. C'est ainsi que la multiplication commerciale de nombreuses espèces s'effectue par ce procédé. De même la culture de méristèmes a permis de débarrasser de leur virus un grand nombre de variétés.

La culture *in vitro* offre bien d'autres possibilités de développement sur un plan plus fondamental, notamment en mutagenèse. Elle devrait en effet rendre plus efficace l'utilisation de substances mutagènes chimiques et faciliter considérablement l'isolement des secteurs mutés. Le traitement mutagène peut être réalisé sur des plantes entières (DURON & DECOURTYE, 1977) ou sur des fragments de plantes sur lesquels on sait provoquer des néoformations caulinaires. En culture *in vitro*, ROEST (1980) a montré qu'il est possible d'étendre à d'autres espèces les avantages de la technique décrite par BROERTJES *et al.* (1968). L'irradiation de parties de plantes susceptibles de former des bourgeons adventifs, en condition naturelle ou en culture *in vitro*, évite la formation de chimères.

Nous nous proposons de tester cette méthode sur *Weigela* pour lequel un travail de mutagenèse classique a déjà été réalisé (DECOURTYE, 1978). Dans ce but, il nous a fallu dans un premier temps déterminer les conditions de culture capables de provoquer des néoformations caulinaires. Nous décrivons les premiers résultats.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le *Weigela* est un arbuste d'ornement de la famille des Caprifoliacées, d'origine asiatique. Son abondante floraison printanière et sa rusticité font qu'il est très répandu dans les parcs et jardins.

Cinq cultivars parmi les plus utilisés en culture ont été étudiés. Ce sont tous des hybrides d'origine parfois incertaine (HOWARD, 1965). Les parents de « Féérie » et « Le Printemps » ne sont pas connus. « Eva Rathke » est issu du croisement *W. rosea* × *W. multiflora*. « Eva Suprême » est un semis de « Eva Rathke » dont les caractéristiques horticoles sont supérieures à celles du parent. « Bristol Ruby » provient du croisement *W. rosea* × « Eva Rathke ».

Nous avons utilisé des plantes cultivées *in vitro*. Elles proviennent toutes de cultures d'apex (DURON, 1975). Les plantes sont maintenues en culture par des bouturages successifs espacés de 3 à 4 mois. Nous pensons ainsi pouvoir disposer tout au long de l'année de matériel qui, élevé dans des conditions homogènes, doit donc être dans un état physiologique comparable d'une expérience à l'autre. C'est de plus un matériel d'un emploi aisé, exempt de contaminations. Enfin, quelques résultats (FAVRE, 1977 ; TAPIN, 1980) montrent qu'avec des plantes ligneuses il est parfois plus facile d'obtenir des néoformations caulinaires sur des plantes cultivées *in vitro*.

En raison d'exigences particulières, les 4 premiers cultivars sont cultivés sur le milieu B (DURON, 1975) modifié de

la façon suivante : la solution minérale de KNOP (1884) est diluée au 1/4, il y a 5 g/l de saccharose, la kinétine est absente. Le milieu de culture de « Bristol Ruby » est sensiblement différent : macroéléments de MURASHIGE & SKOOG (1962) dilués au 1/2, oligoéléments de MURASHIGE et SKOOG, inositol 100 mg/l, vitamines de MOREL & MARTIN (1955), 10 g/l de saccharose, 8 g/l de gélose, 0,5 mg/l d'acide gibbérellique, 0,5 mg/l d'acide indole 3-butyrique.

Nous avons observé des explants constitués par des segments d'entre-nœuds de 0,5 à 0,6 cm de long prélevés sur des plantes âgées de 2 mois. 24 explants par expérience (1 par tube) sont déposés horizontalement sur un milieu inducteur préalablement testé avec « Eva Rathke » de composition suivante : macro- et oligoéléments de MURASHIGE et SKOOG, inositol 100 mg/l, vitamines (thiamine 30 mg/l, acide nicotinique 10 mg/l, pyridoxine 1 mg/l), saccharose 30 mg/l, gélose 8 g/l, N_6 benzylaminopurine 1 mg/l, acide indole 3-butyrique 0,1 mg/l. Les plantes et les explants sont cultivés sous un éclairage journalier de 16 h, à une température de 24 °C le jour et 17 °C la nuit.

Nous avons examiné quelques facteurs pouvant intervenir sur l'aptitude des explants à bourgeonner, à savoir la position de l'explant sur la plante et son génotype. Nous avons également déterminé le temps pendant lequel le stimulus hormonal est nécessaire pour induire des néoformations caulinaires. Pour cela, des explants de « Eva Rathke » sont transférés, au bout de 3, 7 et 10 j de culture, du milieu inducteur au même milieu dépourvu d'hormones.

III. RÉSULTATS

A. Influence du niveau de prélèvement de l'explant sur son aptitude à bourgeonner

Des entre-nœuds sont prélevés à 3 niveaux successifs sur des plantules de « Eva Rathke » (fig. 1). Les explants mis en culture grossissent rapidement. Le grossissement est plus marqué aux extrémités. Après 2 semaines de culture, les premiers signes de néoformation sont visibles à l'œil nu. Ils se manifestent par la sortie d'une première feuille à l'extrémité distale (la plus éloignée de l'apex) de l'explant. Bien souvent, comme par une véritable contagion, des bourgeons apparaissent à la partie supérieure sur la totalité de l'explant (fig. 2).

Le tableau 1 indique, pour chaque niveau, le nombre d'explants portant des bourgeons après 19 et 30 j de culture. Ces résultats montrent qu'après 30 j de culture la quasi totalité des explants apicaux (prélevés immédiatement en dessous de l'apex) ont manifesté une activité organogène. L'activité décroît quand les explants sont prélevés de plus en plus loin de l'apex. Par contre, les explants 2 et 3 ont un cal plus abondant au pôle distal.

Les explants apicaux réagissent plus vite que les autres au stimulus organogène. Après 19 j de culture, des bourgeons sont apparents sur 67 p. 100 d'entre eux. Lorsque les plantes sont conservées sur le même milieu, les bourgeons évoluent en tiges qu'il suffit de transférer sur le milieu B pour avoir des plantes entières. Le bourgeonnement prend parfois une ampleur considérable à tel point que la surface du milieu est couverte par une multitude de tiges.

Les explants ne sont donc pas équivalents. L'aptitude à former des bourgeons et le temps nécessaire à leur différenciation dépendent du niveau de prélèvement de l'explant. Au cours des expériences ultérieures, seul l'explant apical a été utilisé.

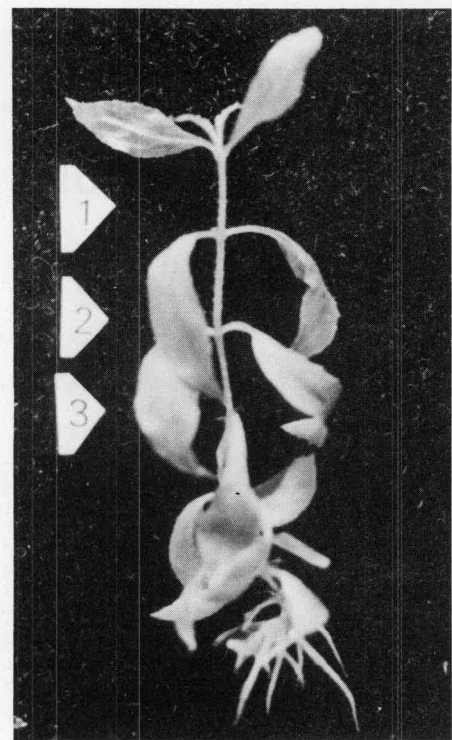


Figure 1
Les 3 niveaux de prélèvement des explants sur une plantule de Weigela.
The three levels at which the explants are picked up from a Weigela plantlet.

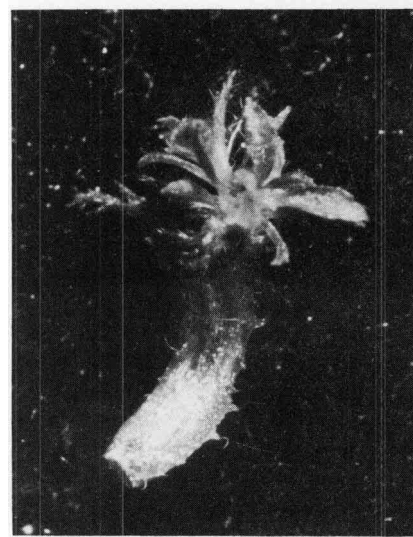


Figure 2
Néoformations caulinaires sur un explant de « Bristol Ruby ».
Bud neoformation on a stem explant of « Bristol Ruby ».

B. Influence du génotype sur l'aptitude à la caulogénèse

Des explants apicaux prélevés sur 5 cultivars sont mis en culture sur le milieu inducteur. Le pourcentage d'explants portant des bourgeons après 30 et 60 j de culture ainsi que l'intensité du bourgeonnement sont portés au tableau 2.

Une variabilité importante de l'aptitude à la caulogénèse se manifeste en liaison avec le génotype. « Eva Rathke » et « Eva Suprême » qui sont apparentés ont des réponses assez

TABLEAU 1

Pourcentage d'explants caulogènes en fonction du niveau de leur prélèvement

Percentage of explants bearing buds picked up at three different levels

Durée de la culture (en jours)	Niveau de prélèvement de l'explant sur la plante		
	niveau 1	niveau 2	niveau 3
19	67	23	18
30	98	60	54

TABLEAU 2

Pourcentage d'explants caulogènes après 30 jours et 60 jours de culture

Percentage of explants with adventitious buds after 30 et 60 days of culture

Cultivars	Durée de la culture		Intensité du bourgeonnement
	30 j	60 j	
Eva Rathke	90	96	+++
Eva Suprême	23	73	++
Bristol Ruby	0	25	+
Le Printemps	0	0	
Féérie	2	24	+

+ = 1 ou 2 tiges par explant (1 or 2 shoots per explant)

++ = 3 à 6 tiges par explant (3 to 6 shoots per explant)

+++ = > 6 tiges par explant (> 6 shoots per explant)

voisines. Il n'en est pas de même pour « Bristol Ruby » qui a pourtant « Eva Rathke » comme parent. Les explants de « Le Printemps », qui est le cultivar le plus vigoureux en culture *in vitro* et *in vivo*, ne produisent aucune néoformation caulinaire.

Il est très difficile de chiffrer avec exactitude le nombre de bourgeons néoformés sur un explant. Le comptage des tiges est délicat et ne peut être qu'une indication. Des travaux en mutagenèse montrent en effet que plusieurs tiges peuvent provenir d'une seule néoformation de bourgeon (ROEST, 1980). C'est pourquoi nous avons représenté l'intensité du bourgeonnement par un ou plusieurs signes +. On constate que les génotypes ayant les plus forts pourcentages d'explants caulogènes ont aussi le plus grand nombre de tiges par explant.

C. Evolution du nombre d'explants portant des bourgeons avec la durée du stimulus hormonal

Sur des explants d'un même génotype l'apparition des premiers bourgeons est échelonnée dans le temps. On sait, depuis les travaux de SKOOG & MILLER (1957), que les néoformations caulinaires sont induites par la présence d'hormones dans le milieu de culture. C'est ainsi que la présence d'auxine et de cytokinine est nécessaire à l'apparition de bourgeons sur des cultures de tissu de moelle de tabac. Nous avons cherché à savoir si une des raisons de cet étalement ne réside pas dans le temps mis par les cellules-cibles des explants à percevoir le stimulus hormonal.

TABLEAU 3

Pourcentage d'explants caulogènes après un séjour de durée croissante sur le milieu inducteur

Percentage of explants bearing buds after an increasing length of time on the inductor medium

Durée du contact avec le milieu inducteur (en jours)	Pourcentage d'explants ayant bourgeonné
0	0
3	25
7	69
10	92

Le tableau 3 indique le pourcentage d'explants de « Eva Rathke » portant des bourgeons après un contact de 0, 3, 7 et 10 j avec le milieu inducteur.

Aucun cas de bourgeonnement n'est enregistré sur des explants cultivés sur un milieu dépourvu d'hormones ; au bout de quelques jours, les explants brunissent puis meurent. Par contre, après 3 j passés sur le milieu inducteur, 25 p. 100 des explants porteront des néoformations caulinaires. Le pourcentage augmente régulièrement pour atteindre son maximum pour une durée de 10 j.

Ces résultats montrent que, suivant les explants, des cellules-cibles sont orientées plus ou moins tôt vers la caulogénèse. Ce pourrait être une des raisons de l'apparition plus ou moins tardive des bourgeons sur les explants en culture.

IV. DISCUSSION-CONCLUSION

Nous venons de présenter, en les précisant pour « Eva Rathke », les conditions expérimentales permettant d'induire la néoformation de bourgeons sur des fragments de tige de *Weigela*. Ce résultat original a pu être obtenu en mettant en culture des explants prélevés sur des plantes en culture *in vitro*. Par contre, des explants analogues de « Eva Rathke » pris sur des plantes élevées en condition naturelle n'ont manifesté aucune activité organogène sur le même milieu de culture. Peut-être faut-il voir là la conséquence de l'effet de « rajeunissement » attribué par certains auteurs à la culture *in vitro*, bien qu'il ne soit pas possible de reconnaître des caractères juvéniles sur des plantes issues de culture *in vitro*. Différents exemples montrent en effet que, chez les espèces ligneuses, les néoformations de bourgeons apparaissent préférentiellement lors de la culture d'explants (cotylédons, hypocotyles) prélevés sur du matériel jeune. Nous disposons actuellement d'un ensemble expérimental qui va nous permettre d'étudier son opportunité en mutagenèse induite par des agents chimiques ou des rayons ionisants.

Toutefois il serait souhaitable de pouvoir étendre la technique à d'autres cultivars plus intéressants sur le plan ornemental tels « Bristol Ruby » ou « Eva Suprême ». Ce sera possible quand nous disposerons d'un milieu qui permettra à un nombre plus élevé d'explants d'exprimer leurs potentialités organogènes. Nous avons constaté qu'un même milieu de culture ne convient pas forcément à différents cultivars. Ce résultat n'est pas unique : de nombreux autres exemples sont connus chez le *pétunia*

(BERGOUNIOUX, 1974), la tomate (BEHKI & LESLEY, 1976; BIGOT *et al.*, 1977), la vigne (FAVRE, 1977)... L'aptitude des explants à former des bourgeons dépend du génotype mais aussi du niveau de prélèvement sur la plante. Il pourrait n'y avoir qu'une seule origine à ces deux événements. Dans le cas de *Petunia hybrida*, BERGOUNIOUX (1974) a montré que la caulogénèse dépend étroitement de la teneur du milieu en auxine et en cytokinine. Lorsqu'on met en culture des explants de différents cultivars sur un même milieu, la composition hormonale endogène peut varier en fonction du génotype. Il en va de même pour des explants prélevés à des distances variables de l'apex, ne serait-ce qu'en raison du transport polaire de l'auxine. Dans ces conditions, le stimulus hormonal apporté par le milieu de culture peut être perçu différemment suivant le génotype de la plante ou le niveau de prélèvement de l'explant.

Le fait que nous n'ayons utilisé qu'un seul milieu de culture pour tenter d'induire la formation de bourgeons autorise tous les espoirs de trouver des équilibres hormonaux mieux adaptés quantitativement et qualitativement à d'autres génotypes. Outre l'équilibre hormonal qui peut demander à être ajusté de façon très précise, d'autres facteurs (teneur en saccharose, milieu minéral, lumière,...) peuvent jouer un rôle déterminant dans l'amélioration de l'aptitude organogène des explants. Les possibilités sont donc grandes de parvenir à un milieu de culture bien adapté à chaque cultivar puisque nous avons montré qu'il n'existe pas de blocage irrémédiable des potentialités caulogènes pour 4 des 5 cultivars étudiés.

Reçu le 11 mars 1981.
 Accepté le 22 juillet 1981.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Behki R. M., Lesley S. M., 1976. *In vitro* plant regeneration from leaf explants of *Lycopersicum esculentum* (Tomato). *Can. J. Bot.*, **54** (21), 2409-2414.
- Bergounioux C., 1974. Déclenchement des phénomènes de régénération sur des pétales de *Petunia hybrida*. *Ann. Amélior. Plant.*, **24** (1), 55-62.
- Berthelot A., 1934. Nouvelles remarques d'ordre chimique sur le choix des milieux de culture naturels et sur la manière de formuler les milieux synthétiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **16**, 1553-1557.
- Bigot C., Ohki S., Mousseau J., 1977. Eléments expérimentaux pour une stratégie d'amélioration des capacités au bourgeonnement *in vitro*. *Acta Hort.*, **78**, 125-132.
- Broertjes C., Haccius B., Weidlich S., 1968. Adventitious bud formation on isolated leaves and its significance for mutation breeding. *Euphytica*, **17**, 321-344.
- Decourtye L., 1978. Amélioration du *Weigela* par mutagenèse : recherche d'une méthode. *Ann. Amélior. Plant.*, **28** (6), 697-707.
- Duron M., 1975. La culture *in vitro* de méristèmes de quelques cultivars de *Weigela* Thunb. hybrides. *C. R. Acad. Sci., Ser. D.*, **281**, 985-987.
- Duron M., Decourtye L., 1977. Mutagenesis with plantlets of *Weigela* sp. grown *in vitro*. In : *Proc. Workshop Eur. Comm. Israël, The use of ionizing Radiation*, Wageningen, March 22-24. Assoc. Euratom Ital, Wageningen, 479-484.
- Favre J. M., 1977. Premiers résultats concernant l'obtention *in vitro* de néoformations caulinaires chez la vigne. *Ann. Amélior. Plant.*, **27** (2), 151-159.
- Howard R. A., 1965. A check-list of cultivar names in *Weigela*. *Arnoldia*, **25**, 9/11, 49-69.
- Knop W., 1884. Bereitung einer concentrierten Nährstofflösung für Pflanzen. *Landw. Versuchs. Stat.*, **30**, 292-294.
- Morel G., Martin C., 1955. Guérison de pommes de terre atteintes de maladies à virus. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **41**, 472-475.
- Murashige T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-479.
- Roest S., 1980. *In vitro* adventitious bud techniques and mutation breeding. In : *Applications de la culture in vitro à l'amélioration des plantes potagères. Réunion Eucarpia section « Légumes »*, Versailles, I.N.R.A., 16-18 avril 1980, 186-191.
- Skoog F., Miller C. O., 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. exp. Biol.*, **11**, 118-130.
- Tapin Monique, 1980. *Contribution à l'étude de la culture in vitro du Weigela*. D.E.A. Physiologie végétale. Université Paris VI, 37 p. + bibliographie.