BOUTURES DE PHYLLOMORPHES DE *STREPTOCARPUS WENDLANDII* SPRENGER

MICHÈLE-A. DUBUC-LEBREUX et JOACHIM VIETH

Département des Sciences biologiques, Université de Montréal, C.P. 6128, Montréal 101, Québec, Canada

SOMMAIRE

Trois types de boutures de *Streptocarpus wendlandii* Sprenger (Gesnériacée) ont été réalisées à partir du phyllomorphe cotylédonaire de plantes témoins et prétraitées (gibbérelline A3 et/ou cytokinine 6-benzylaminopurine). L'initiation de racines et, par la suite, de bourgeons, se fait à partir de l'extrémité proximale des nervures sectionnées. Le prélèvement des explantats à partir de la région proximale du limbe, à partir de plantes en période préflorale ou prétraitées avec AG3 et l'absence de reste de la nervure médiane sur l'explantat favorisent la régénération.

SUMMARY

Three types of cuttings of *Streptocarpus wendlandii* Sprenger (Gesneriaceae) have been realised from the phyllomorph of untreated and pretreated lamina with gibberellin A3 and/or 6-benzyladenin. The products of regeneration obtained varied according to factors as age and size of the phyllomorph and the explant, propagation during preflowering and flowering periods, vascularisation of the explant, treatments with growth substances.

1. INTRODUCTION

Dès l'époque de GOEBEL (1908), le bourgeonnement au niveau de feuilles était déjà connu même si on ne retrouve pas de travaux publiés antérieurement. Ce phénomène se produit naturellement chez certaines espèces, mais peut aussi être induit soit par isolement soit par blessure aux feuilles; un grand nombre d'exemples de ce dernier groupe font partie de la famille des Gesnériacées, incluant le genre *Streptocarpus*.

Divers chercheurs intéressés par les *Streptocarpus* unifoliés et acaules ont cherché à obtenir des boutures à partir de quelques espèces: MARSTON (1957/58, 1962, 1964/65) et HOLLIES (1959/60) ont étudié les facteurs favorables à la rhizogenèse et à l'initiation des bourgeons chez *Streptocarpus* "Constant Nymph" en fonction de l'âge du phyllomorphe, du mode de découpage, de la présence ou de l'absence de la région florifère, de la taille des segments découpés et du milieu de culture utilisé. OEHLKERS (1955, 1956) a observé la floraison des régénérats* obtenus par bouturage du phyllomorphe vernalisé de plusieurs

* Régénérat: produit de régénération formé à partir de l'explantat. On ne retrouve ce terme que chez certains auteurs étrangers alors que "explantat" est couramment utilisé pour désigner la portion de limbe servant au bouturage.

espèces et variétés de *Streptocarpus*. D'après ses résultats, les produits de régénération et le pouvoir de floraison diffèrent avec l'endroit de prélèvement du segment foliaire à bouturer et la durée de la vernalisation. BIGOT (1965) a mis en évidence une polarité de morphogénèse dans le bouturage de fragments foliaires isolés de *Streptocarpus wendlandii*.

On a effectué des boutures à partir du limbe de *Streptocarpus* témoins et prétraités à l'aide de certains morphorégulateurs afin d'observer de quelle façon ces substances affectent les potentialités des boutures de phyllomorpe et déterminer si les effets observés sur la morphologie de l'appareil végétatif et floral de la plante mère réapparaissent chez les régénérats.

2. MATERIEL ET TECHNIQUES

Les expériences ont été effectuées sur des *Streptocarpus wendlandii* Sprenger d'âge et de stade de développement différents.

2.1. Expérience No 1

Dans une première expérience de bouturage, on a choisi 5 plantes âgées de deux ans, n'ayant pas encore initié d'inflorescences et dont les limbes des phyllomorphes mesuraient en moyenne 50 cm de longueur. Deux ont servi de témoins et les trois autres ont été traitées préalablement par deux régulateurs de croissance: AG3 (acide gibbérellique) à 100 ppm et BAP (6-benzylaminopurine ou benzyladénine) à 100 ppm, à raison de 10 applications à une semaine d'intervalle. Le phyllomorpe de chaque plante recevait ainsi 0,35 ml d'une solution aqueuse appliquée en aérosol.

Le mode de découpage des feuilles ainsi que la forme, les dimensions et la numérotation des segments foliaires mis en culture en vue du bouturage sont schématisés sur les figures 1 et 2. Un phyllomorpe témoin et un autre traité avec AG3 ont été sectionnés en deux, le long de la nervure médiane, avant le sectionnement transversal, de façon à retrouver sur chacun une portion de la nervure médiane. L'autre phyllomorpe témoin et les deux autres traités avec AG3 et BAP ont été segmentés après l'enlèvement de la nervure médiane. Les segments rectangulaires simples, parcourus par deux nervures secondaires, ont été disposés horizontalement sur le milieu de culture et maintenus en place par des cure-dents. Les segments rectangulaires "pédicellés" c'est-à-dire à base découpée en languette et vascularisés par 3 nervures secondaires ont été enfoncés à une profondeur de 3 cm dans un substrat constitué de sable fin et disposé dans des boîtes à semis. Les segments foliaires au nombre de 86 furent gardés dans une atmosphère très humide grâce à des arrosages fréquents en aérosol. Une fois initiés, les régénérats furent transplantés en terre dans des pots individuels.

2.2. Expérience No 2

Dans une deuxième expérience, on a utilisé des plantes âgées de deux ans et demi, au stade floral. Le limbe des phyllomorphes témoins avait alors atteint une longueur minimale de 65 cm. Des 16 phyllomorphes sélectionnés, 4 furent utilisés comme témoins, 6 traités avec 100 ppm d'AG3, 3 traités avec 500 ppm

Fig. 1. *Streptocarpus wendlandii*; mode de segmentation du limbe d'un phyllomorph cotylédonaire lors de la première expérience; prélèvement de 16 à 20 explantats sur chaque limbe; la demi-nervure médiane est incluse chez certains explantats (voir texte).

Fig. 2. Forme et dimensions des explantats rectangulaires couchés et dressés de la première expérience.

Fig. 3. *Streptocarpus wendlandii*; mode de segmentation du limbe d'un phyllomorph cotylédonaire lors de la deuxième expérience; prélèvement de 12 explantats circulaires sur chaque limbe.

Fig. 4. Forme et dimension des explantats de la deuxième expérience.

de BAP et 3 traités avec ces deux régulateurs de croissance. Le mode de traitement était le même que celui de la première expérience.

Afin d'avoir des explantats de taille uniforme, on a prélevé 12 segments circulaires de 5 cm de diamètre sur chaque limbe (fig. 3 et 4) sans inclure la région florale. Les 192 explantats ont été numérotés et orientés de façon précise dans la boîte de semis en plaçant la région proximale des nervures de chaque segment dans la même direction. Un mélange de sable et de vermiculite a servi comme support. Les nervures sectionnées ont été protégées contre les moisissures en les saupoudrant de charbon de bois pulvérisé. Chaque boîte de semis a été entourée d'une petite enceinte de matière plastique afin de conserver des conditions de température et d'humidité suffisamment élevées.

3. RESULTATS

3.1. Processus de régénération

Lors du bouturage de phyllomorph de *Streptocarpus wendlandii*, l'initiation des régénérats ne se fait pas au hasard; leur lieu d'initiation et leur mode de dévelop-

pement sont très particuliers. Un à deux mois après la segmentation, on observe le développement d'un système racinaire, à partir de l'extrémité proximale des nervures des explantats. Chaque segment peut ainsi s'enraciner à deux ou trois endroits correspondant aux deux ou trois nervures principales de l'explantat. Environ un mois plus tard, des bourgeons apparaissent à l'extrémité proximale des nervures; ils ne se développent pas en traversant la surface épidermique des explantats, mais apparaissent à la marge supérieure des nervures sectionnées. On observe donc une polarité stricte de morphogenèse, qui n'a pas été modifiée par les prétraitements des phyllomorphes avant la segmentation; racines et phyllomorphe sont toujours initiés successivement à partir du pôle proximal des nervures de l'explantat.

Les bourgeons ont l'aspect de la plante mère, c'est-à-dire qu'ils sont unifoliés. Ils n'apparaissent pas nécessairement à chacun des points d'enracinement. Certains explantats initient un ou plusieurs systèmes racinaires sans qu'il y ait formation de plantule ultérieurement. D'autres explantats s'enracinent et bourgeonnent à deux et même trois endroits. Chaque bourgeon unifolié développe par la suite son propre système racinaire adventif, comparable à celui d'une plantule issue de la germination de graine.

3.2. Expérience No 1

Dans la première expérience, deux mois après le bouturage, la quasi totalité des segments provenant de la région proximale des limbes (segments Nos 1 à 4) a formé des racines. L'initiation des bourgeons se produit ultérieurement, mais de façon relativement précoce sur les segments des phyllomorphes traités avec AG3. Peu après les segments intermédiaires forment des racines avec ou sans bourgeons. Les segments distaux dégénèrent complètement. On a obtenu un nombre variable de régénérats par segment, nombre variant selon la catégorie de prétraitement. L'acide gibbérellique favorise sensiblement l'initiation de plusieurs bourgeons par segment.

La nervure médiane des segments foliaires insérés verticalement dans le sable (Expérience No 1) inhibe la rhizogenèse. Seuls les deux ou trois premiers segments proximaux développent des racines et par la suite des bourgeons. Chez les explantats couchés horizontalement sur le milieu de culture, il n'y a pas de différence remarquable, que l'on conserve ou non une portion de la nervure médiane; ils restent chlorophylliens et turgescents plus longtemps que les segments insérés verticalement; les plantes obtenues sur les premiers sont plus vigoureuses.

Au moment du bouturage, nous avons conservé un groupe d'échantillons intacts; les témoins fleurirent 6 mois après le bouturage et les individus traités avec AG3 fleurirent mais seulement après le bouturage. Il semble donc que l'AG3 est capable de déclencher une floraison précoce chez les *Streptocarpus wendlandii* entiers. Les régénérats provenant de segments de phyllomorphes traités avec AG3 ont initié des inflorescences prématurément par rapport aux régénérats provenant des témoins; de plus, un plus grand nombre de bourgeons portent des inflorescences. L'effet stimulateur de l'AG3 sur la floraison des

Tableau 1. Types et distribution des régénérats sur les explantats rectangulaires. Expérience No 1.

Explantats:	Témoin				AG3				BAP	
	Couchés		Dressés		Couchés		Dressés		Couchés	Dressés
	SN	AN	SN	AN	SN	AN	SN	AN	SN	SN
No phyllo- morphe:	1	2	1	2	3	4	3	4	5	5
No explantat										
1	●	●	○	X	●	●	○	●	●	○
2	●	●	●	●	●	●	○	○	○	○
3	○	○	●	—	●	●	—	—	●	○
4	○	○	○	—	●	●	●	—	○	—
5	○	●	—	—	○	○	—	—	—	—
6	○	—	—	—	—	○	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	XXX
8	—	—	—	XXX	—	—	—	—	—	XXX
9	—	—	XXX	XXX	—	—	XXX	XXX	—	XXX
10	—	—	XXX	XXX	—	—	XXX	XXX	—	XXX

AN Portion de la nervure médiane du phyllomorphe incluse.

SN Nervure médiane du phyllomorphe excluse.

○ Initiation de racines sur l'explantat.

○ Initiation de racines et d'un phyllomorphe sur l'explantat.

● Initiation de racines, d'un phyllomorphe et d'inflorescences sur l'explantat.

X Arrêt accidentel de l'expérience.

XXX Aucun explantat prélevé à ce niveau.

— Dégénérescence de l'explantat avant même l'initiation de racines ou de régénérat.

phyllomorphes de *Streptocarpus wendlandii* est donc conservé après segmentation du limbe. A la fin de l'expérience, l'allure générale des segments bouturés se présente tel que schématisé par le *tableau 1*.

3.3. Expérience No 2

Dans la deuxième expérience, à l'inverse de la première, les phyllomorphes ont donné un faible pourcentage de boutures réussies, malgré le fait que cette dernière expérience a été réalisée avec un grand nombre d'échantillons: 8,3% de l'ensemble des explantats ont développé des racines et 6,3% des bourgeons. Dans la première expérience, 44,8% des explantats avaient engendré des bourgeons. Mais à nouveau, seuls les segments prélevés dans la région proximale du limbe ont produit des boutures viables. Aucun régénérat ne s'est formé à partir des segments de feuille prétraitée avec BAP et très peu après prétraitement avec AG3/BAP. Les effets respectivement stimulateur et inhibiteur de l'AG3 et du BAP sur la rhizogénèse ne se sont pas manifestés dans de telles conditions expérimentales. On a relevé 3 régénérats florifères dans la série AG3, dont 1 à floraison précoce; un régénérat à floraison précoce a également été observé à partir d'un explantat témoin. Dans les deux cas où l'inflorescence est apparue très rapidement, le régénérat présentait une morphologie aberrante. On a relevé de 1 à 3 bourgeons régénérés par segment chez les témoins et les plantes pré-

Tableau 2. Types et distribution des régénérats sur les explantats circulaires.* Expérience No 2.

No phyllo- morphes:	Témoïn				AG3					AG3-BAP			BAP			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
No explantat																
1 & 5	--	--●	○○	--	●	--	○○	●	○	--	--	○●	--	--	--	--
2 & 6	--○	--	○	--	--	--	○	--	○	--	--	--	--	--	--	--
3 & 7	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
4 & 8	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
9 & 11	--	○○	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
10 & 12	--	--○	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

* Voir *tableau 1* pour la signification des symboles utilisés.

traitées avec AG3. Les résultats essentiels de cette expérience sont résumés dans le *tableau 2*.

4. DISCUSSION

Certains résultats homogènes et d'autres très hétérogènes, obtenus à la suite de ces deux expériences de bouturage, invitent à discuter l'effet de certains facteurs morphologiques et physiologiques sur la nature de la régénération.

L'âge et les dimensions du phyllo-morphe sont deux facteurs inséparables puisque ses dimensions s'accroissent au cours de sa maturation. Généralement, le potentiel méristématique des cellules diminue avec l'âge et la différenciation. Il semble donc normal que des phyllo-morphes de grande dimension, après deux ans et demi de croissance (Expérience No 2), manifestent un pouvoir de régénération affaibli. MARSTON (1957/58) signale l'existence probable d'une période d'âge optimum au cours de laquelle le bouturage est facilement réussi; les jeunes feuilles ne produisent pas autant de régénérats que les plus vieilles mais, par contre, de vieilles feuilles trop grandes dégèrent avant de produire des régénérats. Suivant les résultats de HOLLIES (1959/60), les dimensions du phyllo-morphe bouturé jouent un rôle plus important que l'âge de celui-ci; mais le facteur limitant n'est probablement pas une substance nutritive, car l'addition de compost au milieu de culture n'augmente pas le nombre de bourgeons initiés par les petits phyllo-morphes. Lors de la deuxième expérience, les phyllo-morphes de *Streptocarpus wendlandii* avaient atteint des dimensions assez considérables et produisirent peu de régénérats. Ces résultats sont contraires à ceux de Hollies, mais comparables à ceux de Marston qui démontrent que les possibilités de régénération pour l'ensemble des phyllo-morphes diminuent chez des plantes physiologiquement trop âgées. Mais comme on n'a utilisé que des segments de limbe et non pas des phyllo-morphes entiers ou presque, comme, l'ont fait Hollies et Marston, ceci risque de modifier l'interprétation des résultats.

La surface moyenne des trois types d'explantats, rectangulaires couchés, rectangulaires dressés et circulaires était respectivement 40 cm², 34,5 cm² et 15,7 cm². Si l'on compare strictement ces résultats, le nombre de boutures réussies diminue proportionnellement à la surface des explantats. MARSTON

(1959) mentionne que le nombre de racines et de bourgeons obtenus est proportionnel à la surface de la portion de phyllomorphe utilisé, pour deux phyllomorphes donnés de même position et même dimension. Mais le facteur surface n'est pas le seul à considérer; le contact très réduit des boutures rectangulaires dressées avec le substrat favorise le dessèchement prématuré et rend plus difficile l'enracinement. L'âge du segment foliaire entre en jeu également; chez les *Streptocarpus*, l'extrémité distale du limbe vieillit et dégénère alors que la portion proximale est en croissance constante; en effet, on a observé, lors des deux expériences, que les jeunes segments proximaux des limbes initient facilement et rapidement des produits de régénération, alors que les segments âgés issus de l'extrémité distale dégèrent rapidement.

On a pu confirmer le fait que, si l'explantat présente plusieurs sections de nervures à ses marges, la régénération s'effectue très souvent à plusieurs endroits à la fois comme l'avait mentionné MARSTON (1957/58). Chez une partie des explantats insérés verticalement, on avait conservé une portion de la nervure médiane, de sorte que seule la nervure médiane était en contact direct avec le substrat. De fait le nombre d'explantats réussis a été minime, dans ce cas.

La polarité de morphogenèse est toujours conservée, même chez les échantillons prétraités au BAP, bien que ce régulateur ait la propriété générale de stimuler l'activité mitotique; la reprise de celle-ci n'a lieu qu'à partir du pôle proximal de l'explantat. On constate donc une fois de plus l'originalité du bouturage de feuilles qui veut que racines et feuilles soient initiés exclusivement à partir du pôle proximal, contrairement à ce qui se produit lors du bouturage de tiges (BIGOT 1965).

D'autre part les prétraitements à l'AG3 ont favorisé l'initiation précoce et abondante de bourgeons végétatifs sur les régénérats; ces derniers avaient été prélevés sur des phyllomorphes en croissance plus active que les phyllomorphes témoins; des mesures comparées de surfaces foliaires ont démontré que les limbes des phyllomorphes traités avec AG3 s'allongent considérablement par rapport aux témoins. L'activité métabolique ainsi augmentée favorise probablement la réussite des boutures de phyllomorphes.

L'induction florale joue un rôle également sur le type de régénérat initié. HOLLIES (1959/60), lors de ses expériences sur *Streptocarpus* "Constant Nymph", a remarqué que la présence de la région florifère dans les segments bouturés inhibe la rhizogénèse mais a un effet variable sur l'initiation des bourgeons. Suivant COOKE (1954), la floraison s'accompagne d'une diminution du taux d'auxine, ce qui inhibe généralement la rhizogénèse et, par contre, stimule l'initiation des bourgeons. Notre deuxième expérience démontre que la période florale n'est pas propice chez *Streptocarpus wendlandii* à l'initiation de racines et de bourgeons. Il est possible que ce facteur aille de pair avec l'âge physiologique trop avancé de la feuille, *S. wendlandii* étant une espèce monocarpique. Les expériences d'OEHKERS (1956) se sont déroulées en période préflorale après induction de la floraison. Il a observé sur les segments de phyllomorphes de *Streptocarpus* vernalisés, le développement de différents produits de régénération, suivant l'endroit de prélèvement; à partir de la région proximale, il y a

initiation d'un cal et d'inflorescences directement; à partir de la région intermédiaire, il y a initiation d'un cal, d'un phyllomorphe et par la suite d'inflorescences pauciflores; à partir de la région distale, il y a initiation d'un cal et uniquement d'un phyllomorphe; à partir de l'extrémité distale, il y a simplement rhizogenèse et dégénérescence du segment. Oehlkers en conclut qu'il y a migration de substances florigènes dans le sens basipète du phyllomorphe. Lors de la 1^{re} expérience, la distribution des régénérats frondipares et floripares est bien marquée, et particulièrement chez les explantats couchés; les prétraitements avec AG3 augmentent le nombre de régénérats floripares. Comme l'a observé Oehlkers, la proximité de la région florifère favorise la floraison précoce des régénérats, mais on n'a jamais obtenu d'initiation d'inflorescence directement à partir d'un cal cicatriciel et les inflorescences de la région intermédiaire ne sont nullement pauciflores. La substance florigène, si elle existe vraiment, ne semble pas répartie suivant un gradient aussi marqué que le laissent supposer les expériences d'Oehlkers. Ces résultats démontrent d'une part (a) que les effets stimulant de l'AG3 sur la floraison des phyllomorphes entiers se répercutent sur les boutures de phyllomorphes, bien que les effets de l'AG3 soient en général temporaires et cessent lors de l'interruption des traitements et (b) que la région proximale du phyllomorphe produit facilement des boutures floripares, mais ceci seulement après initiation du phyllomorphe unique, typique des *Streptocarpus wendlandii*. La migration possible d'une substance "florigène" dans le limbe des *Streptocarpus*, lors de l'induction florale, n'est pas démontrée aussi clairement, si l'on compare nos résultats à ceux d'Oehlkers. Il est toutefois possible que l'induction florale provoquée prématurément par les traitements avec AG3 n'ait été que partielle du fait que les plantes intactes ont fleuri un mois après le bouturage.

5. CONCLUSION

Pour conclure, résumons les principaux résultats obtenus lors de ces expériences de bouturage du phyllomorphe de *Streptocarpus wendlandii*.

1. La régénération, sur les explantats de phyllomorphes de *S. wendlandii*, débute par l'initiation de racines et, par la suite, d'un ou de quelques bourgeons unifoliés.
2. Il existe une polarité morphogénétique lors de l'initiation des régénérats. Ceux-ci apparaissent uniquement à partir de la portion proximale des nervures sectionnées. Cette polarité n'est pas modifiée à la suite des prétraitements par la gibbérelline ou la cytokinine.
3. Le pouvoir de régénération diminue avec l'âge de l'explantat; des segments prélevés sur des plantes en période florale, ou prélevés à partir de la région distale du limbe, sont dans les deux cas d'âge physiologique trop avancé pour permettre, en général, la réussite du bouturage.
4. L'initiation de régénérats semble conditionnée par le nombre de nervures sectionnées de l'explantat; la conservation d'une portion de la nervure médiane ne favorise pas le processus de rhizogenèse.

5. BAP, en solution concentrée (500 ppm), inhibe la rhizogenèse.
6. AG3 favorise l'initiation précoce et abondante des bourgeons végétatifs sur les explantats.
7. AG3 stimule la floraison des phyllomorphes entiers et segmentés; les inflorescences apparaissent légèrement plus tôt que chez les échantillons non traités.
8. Aucun explantat ne produit directement des inflorescences.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tous ceux qui, par leur aide financière ou technique, ont permis ou facilité nos recherches: le Conseil National des Recherches du Canada, le Ministère de l'Éducation du Québec, le Jardin Botanique de la Ville de Montréal et les techniciennes, Christiane Morisset et Lyne St-Pierre.

BIBLIOGRAPHIE

- BIGOT, C. (1965): Mise en évidence d'une polarité de morphogenèse dans le bouturage de fragments foliaires isolés. Aspects divers de cette morphogenèse. *Ann. Physiol. Vég.* 7 (4): 295-333.
- COOKE, A. R. (1954): Changes in free auxin content during the photo-induction of short-day plants. *Plant Physiol.* 29: 440-444.
- GOEBEL, K. (1908): *Einleitung in die experimentelle Morphologie der Pflanzen*. Leipzig.
- HOLLIES, M. A. (1959/60): *Some factors affecting the vegetative propagation of Streptocarpus*. Dissertation, Dept. of Horticulture, Univ. of Nottingham School of Agriculture, Loughborough, 92 pp.
- JONG, K. (1970): *Developmental aspects of vegetative morphology in Streptocarpus*. Thèse, University of Edinburgh, Edinburgh, Scotland, 168 pp.
- MARSTON, M. E. (1957/58): Propagation of plants by leaves. *Sci. Hort.* 13: 56-61.
- MARSTON, M. E. (1962): The propagation of plants from leaf cuttings with special reference to *Streptocarpus*. *XVth International horticultural Congress, Brussels-Belgium*. 33-40.
- MARSTON, M. E. (1964/65): The morphology of a *Streptocarpus* hybrid and its regeneration from leaf cuttings. *Sci. Hort.* 17: 114-120.
- OEHLKERS, F. (1955): Blattstecklinge als Indikatoren für blütenbildende Substanzen. *Z. Naturforsch.* 10: 158-160.
- OEHLKERS, F. (1956): Veränderungen in der Blühbereitschaft vernalisierter Cotyledonen von *Streptocarpus*, kenntlich gemacht durch Blattstecklinge. *Z. Naturforsch.* 11: 471-480.