

Utilisation de de culture stérile d'organes pour

par **D. AGHION**

Laboratoire du Phytotron

En octobre 1958, la Revue Fruits publiait un article de P. Péligrin intitulé « Ananas en Culture sans Sol » (vol. 13, n° 9-10, p. 401) ; l'auteur y mentionnait que, bien à son regret, il n'avait pu réussir à obtenir la phase initiale de développement autrement qu'en terreau ; après, il utilisait la technique des solutions nutritives.

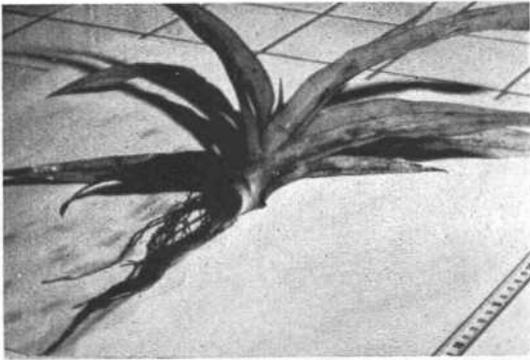
L'intérêt d'avoir des jeunes ananas n'ayant reçu qu'une alimentation strictement contrôlée n'échappe à personne.

On a essayé de cultiver les souches de cette plante en l'absence de terre, dans des granules plastiques. Jusqu'ici ce fut un échec.

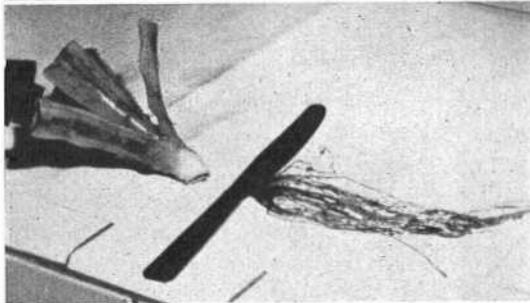
C'est pourquoi l'article que nous présentons à nos lecteurs offre un grand intérêt. La méthode que les auteurs décrivent, et qui s'inspire directement des techniques de culture de tissus, permet d'obtenir des ananas entièrement « sans sol » avec, en outre, un taux de multiplication très élevé.

Nous espérons que cet article incitera certains de nos lecteurs à reproduire la technique décrite et nous serons heureux de publier ici les commentaires qui pourraient en résulter.

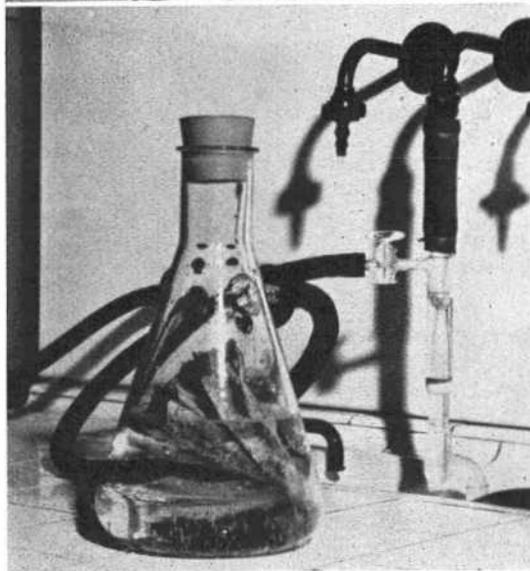
N. D. L. R.



1



2



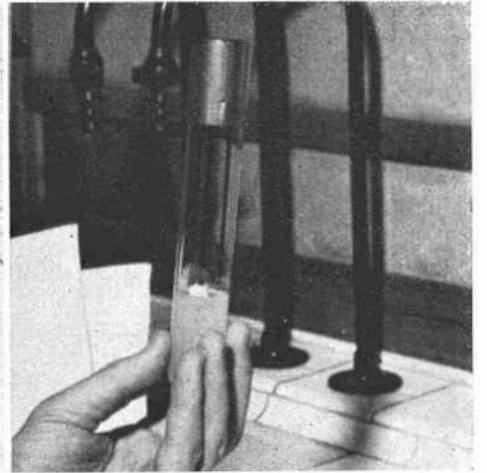
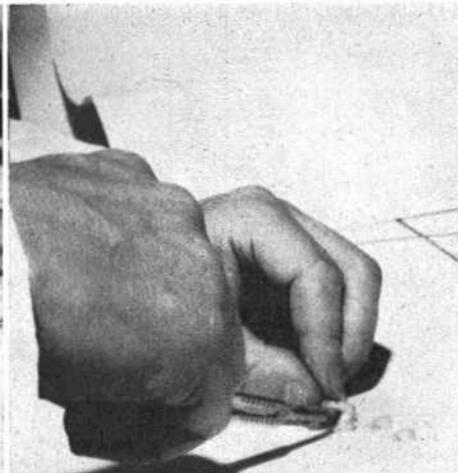
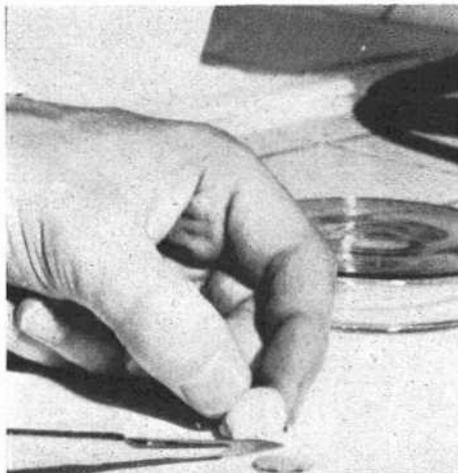
3

1. Ananas entier. — 2. Racines et feuilles sont sectionnées. — 3. Stérilisation sous vide dans l'hypochlorite. — 4. Les feuilles arrachées, on élimine la région basale de la tige portant trace des départs des racines. — 5. Tige débitée en secteurs. — 6. Fragment de tige dans un tube de culture.

4

5

6



technique

Obtenir des clones d'ananas

BEAUCHESNE

V. R. S. — Gif-sur-Yvette

Matériel.

Jeunes plants d'ananas de 3-4 mois obtenus en serre à partir de souches africaines.

Mode de préparation des tiges et désinfection.

Pour faciliter la suite des opérations de stérilisation, on coupe la zone radiculaire de la plante ainsi que les feuilles à mi-hauteur.

On introduit les plants ainsi préparés dans une fiole à vide de Kitasato, à large ouverture, contenant une solution d'hypochlorite de calcium à 7 %. Pendant 20 minutes, ils sont soumis à des alternances de vide et de pression atmosphérique pour que l'hypochlorite pénètre dans tous les interstices. Après quoi, on jette l'hypochlorite ; puis de nouveau on fait le vide pour éliminer le chlore.

Les échantillons sont alors transportés en chambre stérile où les bases des feuilles sont arrachées ; il reste alors la tige aplatie d'un diamètre de 2 ou 3 cm.

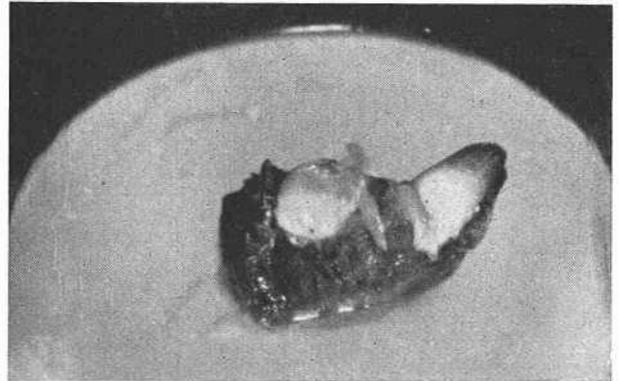
Chaque tige est plongée successivement dans plusieurs fioles d'Erlen-Meyer :

la première contenant de l'auréomycine à 1/1 000 pour éviter les infections bactériennes ;

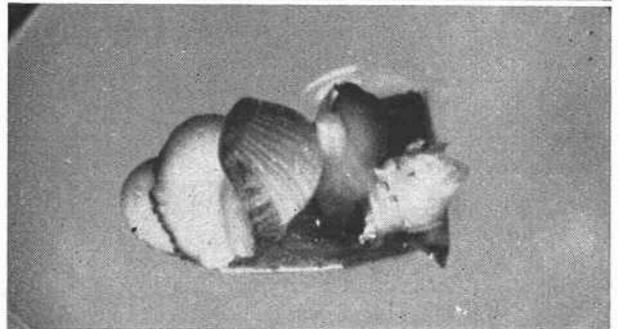
la deuxième contient du glutathion à 10^{-5} (poids), stérilisé selon la technique habituelle par l'éther (la poudre est agitée avec de l'éther déperoxydé qu'on laisse ensuite évaporer dans la pièce stérile). Le trai-



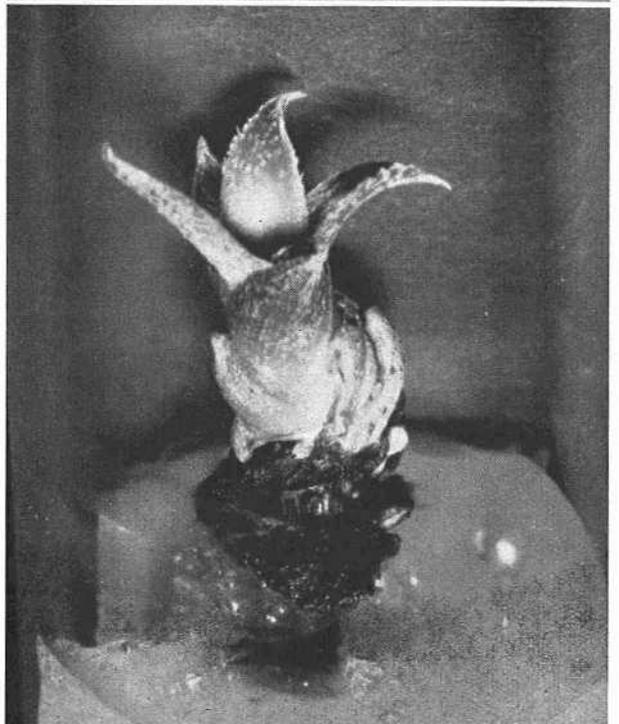
7



8



9



10

7. Bourgeon terminal.

8 et 9. Les premières ébauches apparaissent.

10. Jeune ananas repiqué n'ayant pas encore de racines.

tement au glutathion a pour but de limiter les oxydations.

Enfin 3 fioles contiennent de l'eau stérile pour le rinçage ; les tiges sont laissées dans la dernière fiole.

Le passage d'une fiole à l'autre doit se faire très rapidement.

Puis les tiges sont découpées en une vingtaine de secteurs sous papier filtre ; chaque fragment est introduit dans un tube de culture. Un ananas permet ainsi d'obtenir en moyenne 20 cultures.

Milieu de culture.

C'est notre solution de base habituelle qui n'est pas forcément ici la meilleure :

Solution minérale de Knop diluée 2 fois ;

Oligoéléments de Berthelot (1) ;

Glucose 3 % ;

Gélose 1 %.

Vitamine B₁ (10⁻⁶), Pyridoxine (10⁻⁷), acide nicotinique (10⁻⁷) à laquelle nous avons ajouté 15 % de lait de coco provenant de noix fraîches.

Les tubes de culture, contenant chacun 20 ml de ce milieu, sont autoclavés pendant 20 minutes, à 120° C et 1 hpz.

Résultats.

Au bout de 15 jours à une température d'environ 25° C, et en lumière continue donnée par des tubes fluorescents, chaque fragment non infecté de tige porte un, deux, ou trois bourgeons ressemblant à de minuscules ananas adultes bien verts sans racines.

Un mois et demi après le début de l'expérience, chaque petit plant d'ananas ainsi obtenu est repiqué soit a) sur milieu de base additionné d'auxine (A. I. A.) à une concentration de 2×10^{-6} (poids) afin d'obtenir des racines,

(1) Oligoéléments de Berthelot.

Composition =

H ₂ O distillée pyrex.	1 000 ml.	5 Ti O ₂ SO ₃ , 5 H ₂ O	0,27
(SO ₄) ₃ Fe ₂ , 9 H ₂ O.	50 gr.	SO ₄ Zn, 7 H ₂ O. ...	0,10
SO ₄ Mn, 7 H ₂ O. ...	2	SO ₄ Cu, 5 H ₂ O. ...	0,05
IK.	0,50	SO ₄ Be, 4 H ₂ O. ...	0,10
Cl ₂ Ni, 6 H ₂ O.	0,05	BO ₃ H ₃	0,05
Cl ₂ Co, 6 H ₂ O.	0,05	SO ₄ H ₂ (66° Bé).	1 ml.

soit b) sur milieu de base additionné d'un extrait de caryopse de maïs immature qui, dans d'autres cas, favorise l'apparition de bourgeons en présence d'une faible dose d'auxine (de l'ordre de 10⁻⁷ en poids).

Après quelques jours sur le milieu contenant la substance de croissance du lait de maïs, de nouveaux petits bourgeons se forment à l'aisselle des feuilles préexistantes. Ces bourgeons d'abord jaunâtres sont devenus aussi verts que les premiers apparus.

Les racines, de toute façon peu nombreuses, apparaissent lentement.

Quelques semaines plus tard, les ananas, retirés de la gélose, sont transportés en milieu liquide ; la composition de ce milieu était celle de Knop ; mais l'expérience a montré qu'il ne convenait pas parfaitement.

Remarques.

Lors de la stérilisation, nous avons laissé les feuilles *in situ* afin d'éviter de léser les tissus profonds. Mais ceci diminue l'efficacité de la désinfection, ce qui explique l'abondance du développement bactérien qui apparut dans les cultures par la suite. Toutefois les infections qui apparaissent lorsque les bourgeons sont déjà bien formés n'empêchent pas d'amener le jeune ananas à son développement normal pourvu qu'on le change souvent de milieu.

Le passage du milieu gélosé au milieu liquide est rendu difficile par la rareté des racines.

Il faudrait pouvoir refaire de nombreuses expériences et éliminer ces 2 causes d'échec ; on pourrait alors obtenir 20 plants d'ananas ou plus à partir d'un seul en 6 mois, soit $20 \times 20 = 400$ plants d'ananas en un an à partir d'un seul.

Nous ne savons pas encore si nous avons obtenu ces jeunes ananas par développement d'ébauches préexistantes ou par néoformation *sensu stricto*.

OUVRAGES CONSULTÉS

- GAUTHERET R. J. La culture des tissus végétaux. Masson et C^{ie} éditeurs, Paris 1959.
 MOREL G. et R. H. WETMORE (1951). Tissue culture of Monocotyledons. Amer. J. Bot., 38, 2, 138-140.

