

L'endomycorhization de vitroplants d'*Ananas comosus*: mise en évidence d'un effet mycorhizien.

J.P. GUILLEMIN, S. GIANINAZZI et
Vivienne GIANINAZZI-PEARSON*

INTRODUCTION

L'ananas, comme la plupart des espèces végétales, développe à l'état naturel des endomycorhizes à vésicules et à arbuscules (VA) (MOURICHON, 1981). Ces symbioses, partie intégrante de la plante, sont connues pour influencer positivement plusieurs aspects de la physiologie de l'hôte : la nutrition minérale (en particulier phosphatée), l'absorption de l'eau du sol, la production d'hormones et la résistance à des maladies d'origine tellurique (GIANINAZZI *et al.*, 1982).

La production d'ananas se fait de plus en plus par multiplication végétative *in vitro*. Cette méthode aboutit à des plantes indemnes d'endomycorhizes. Des expériences réalisées avec d'autres espèces (pommier, poirier ...) et portant sur l'introduction de champignons endomycorhizogènes dans le processus de micropropagation ont démontré l'intérêt de l'endomycorhization pour la reprise et la croissance des microboutures (GIANINAZZI *et al.*, 1988). Récemment RAVOLANIRINA *et al.*, (1989 a), en comparant chez la vigne, l'effet sur la croissance de l'endomycorhization *in vitro* et *post-vitro*, ont conclu que cette dernière favorise au mieux la croissance des plantes. Suite à ces études, une méthode rapide d'endomycorhization *post-vitro* de vitroplants de vigne et palmier à huile a été mise au point (RAVOLANIRINA *et al.*, 1989 b). Cet article relate nos premiers résultats dans l'application de cette nouvelle biotechnologie aux vitroplants d'ananas.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal.

Deux clones (CY0 et CY5) de vitroplants d'ananas (*Ananas comosus* L. variété Cayenne), fournis par Vitropic SA (Montpellier), ont été utilisés.

* - Laboratoire de Phytoparasitologie INRA-CNRS - Station de Génétique et Amélioration des Plantes - INRA - BV 1540 - 21034 DIJON Cedex, France.

Endomycorhization.

Les plants d'ananas sont endomycorhizés dans des sols acide à pH 5.0 (Marlins) ou alcalin à pH 8.0 (Epoisses), irradiés aux rayons gamma (10 kGy). Dans le sol acide, les plantes sont inoculées avec un isolat de *Glomus* sp. (LPA 21) multiplié sur *Tephrosia ehlenbergiana* L. et provenant de Dabou (Côte d'Ivoire). Dans le sol alcalin, les plantes le sont avec *Glomus intraradices* (LPA 8) multiplié sur *Allium cepa* L.

L'inoculation est réalisée à la sortie du tube pendant le sevrage dans des terrines avec des fragments d'endomycorhizes de *T. ehlenbergiana* et d'*A. cepa* respectivement (RAVOLANIRINA *et al.*, 1989). Après 4 semaines, les vitroplants sont repiqués dans des pots de 400 g contenant de la terre irradiée aux rayons gamma et du gravier (TG 50:50). A partir du repiquage chaque plante reçoit par semaine 2 fois 20 ml d'une solution nutritive d'Hoagland n° 2 complète (COTE, 1988) ou sans phosphore (NH₄ H₂PO₄ remplacé par NH₄Cl). Chaque traitement est constitué d'un lot de 5 plantes.

L'estimation de la croissance est déterminée chez des ananas 4 mois après la sortie des conditions axéniques par la mesure du nombre de feuilles, du poids de matière fraîche de la partie aérienne et des racines, du poids de matière sèche de la partie aérienne et de la surface foliaire.

L'estimation de l'infection endomycorhizienne VA est effectuée avec la méthode de TROUVELOT *et al.* (1986) après éclaircissement et coloration des racines au bleu de trypan (PHILIPPS et HAYMAN, 1970).

RESULTAT ET DISCUSSION

La méthode d'inoculation utilisée a permis d'endomycorhizer les deux clones de vitroplants d'ananas aussi

bien avec *Glomus* sp. qu'avec *G. intraradices*. Quand les plantes sont infectées avec *Glomus* sp., les valeurs de l'infection endomycorhizienne sont plus élevées que celles observées avec *G. intraradices*. Pour les deux clones, l'intensité de l'infection endomycorhizienne (M p. 100) et la teneur en arbuscules (A p. 100) sont plus élevées chez les plantes ayant reçu la solution sans phosphore aussi bien dans le sol acide que dans le sol alcalin ; toutefois ces différences sont plus marquées dans le cas du clone CY0 (tableaux 1, 2, 3 et 4).

L'effet endomycorhizien sur la croissance des 2 clones ayant reçu une solution sans phosphore est détectable dès le troisième mois après la sortie des conditions axéniques. Les mesures des paramètres de croissance (nombre de feuilles, poids de matière fraîche de la partie aérienne et des racines, poids de matière sèche de la partie aérienne et des surfaces foliaires) sont toutes significativement supérieures chez les ananas endomycorhizés sauf pour le nombre de feuilles et le poids de matière fraîche des racines dans le cas du clone CY0 sur sol acide (tableaux 1, 2, 3 et 4). Le clone CY5 est plus dépendant des endomycorhizes que CY0 : dans le sol acide, le gain, en surface foliaire pour le clone CY5 endomycorhizé, est de 227 p. 100, alors que pour le clone CY0, il est seulement de 207 p. 100. Dans le sol alcalin, on observe le même phénomène : la dépendance endomycorhizienne du clone CY5 est supérieure (286 p. 100) à celle du clone CY0 (196 p. 100).

Chez les ananas recevant la solution complète, l'effet endomycorhizien ne s'exprime pas de façon aussi importante que chez les plantes ayant reçu une solution sans phosphore.

phore. Dans le sol acide, un meilleur développement des plantes endomycorhizées est néanmoins obtenu pour le clone CY0, mais la différence est significative uniquement au niveau du nombre de feuilles et de leur surface foliaire (tableau 1). Pour le clone CY5, la tendance est la même, mais aucun paramètre de croissance n'est significativement supérieur au témoin (tableau 3). Dans le sol alcalin, l'effet endomycorhizien ne s'exprime pas avec l'apport de phosphore (tableaux 2 et 4), bien que pour les deux clones endomycorhizés, le poids de matière fraîche des racines soit légèrement supérieur et que l'endomycorhization du clone CY0 se traduit par une surface foliaire plus développée.

Si l'on compare les valeurs obtenues dans tous les traitements, on constate que les plantes qui se développent le plus rapidement sont celles qui sont endomycorhizées sur du sol acide et qui n'ont pas reçu de phosphore (tableaux 1, 2, 3 et 4).

Le rapport du poids de matière fraîche racinaire sur le poids de matière fraîche aérienne diminue chez les ananas endomycorhizés (tableaux 1, 2, 3 et 4) et cette baisse est corrélée négativement avec l'intensité de l'effet endomycorhizien de la croissance aérienne (figure 1). Cela signifie que les plantes endomycorhizées développent un système racinaire moins important mais plus efficace que celui des plantes non inoculées. Dans le sol alcalin, quand l'effet endomycorhizien ne s'exprime pas, le rapport racine/partie aérienne chez les plantes inoculées augmente, traduisant la baisse de l'efficacité de leurs organes souterrains.

En conclusion, nous pouvons dire que l'endomycorhi-

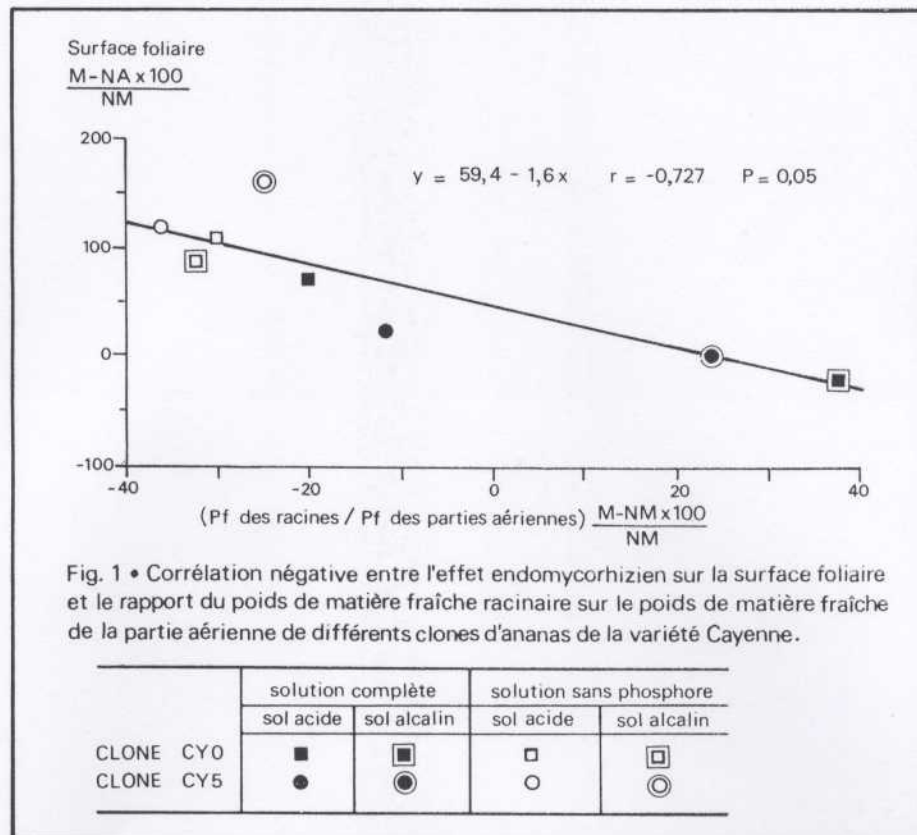


Fig. 1 • Corrélation négative entre l'effet endomycorhizien sur la surface foliaire et le rapport du poids de matière fraîche racinaire sur le poids de matière fraîche de la partie aérienne de différents clones d'ananas de la variété Cayenne.

TABLEAU 1 - Influence de l'endomycorhization sur la croissance, dans un sol acide à pH 5,0 d'*Ananas comosus* variété Cayenne, clone CY0 âgé de 4 mois, inoculé avec *Glomus* sp. (Gd) et ayant reçu une solution d'Hoagland avec (+P) ou sans (-P) phosphore.

	Témoin (-P)	Gd (-P)	Témoin (+P)	Gd (+P)
Nombre de feuilles	21.0a	23.2a	17.2b	21.2a
Pf. des parties aériennes (g) (A)	20.91b	43.31a	11.36b	19.28b
Pf. des racines (g) (R)	2.42a	3.52a	1.22b	1.66b
R/A (p. 100)	11.6	8.1	10.7	8.6
Ps. des parties aériennes (g)	2.38b	4.17a	1.41c	1.44c
Surface foliaire (cm ²)	220.9b	454.4a	133.9c	229.1b
M p. 100	0b	79a	0b	57a
A p. 100	0b	49a	0b	33a

TABLEAU 2 - Influence de l'endomycorhization sur la croissance, dans un sol alcalin à pH 8,0, d'*Ananas comosus* variété Cayenne, clone CY0 âgé de 4 mois, inoculé avec *Glomus intraradices* (Gi) et ayant reçu une solution d'Hoagland avec (+P) ou sans (-P) phosphore.

	Témoin (-P)	Gi (-P)	Témoin (+P)	Gi(+P)
Nombre de feuilles	17.0b	21.8a	21.4a	21.6a
Pf. des parties aériennes (g) (A)	12.78b	24.96a	21.19a	19.22a
Pf. des racines (g) (R)	1.73b	2.30a	1.57b	1.96b
R/A (p. 100)	13.5	9.2	7.4	10.2
Ps. des parties aériennes (g)	1.41b	2.41a	2.37a	2.35a
Surface foliaire (cm ²)	141.7b	263.1a	233.7a	271.3a
M p. 100	0c	65a	0c	35b
A p. 100	0b	27a	0b	17a

TABLEAU 3 - Influence de l'endomycorhization sur la croissance, dans un sol acide à pH 5,0 d'*Ananas comosus* variété Cayenne, clone CY5 âgé de 4 mois, inoculé avec *Glomus* sp. (Gd) et ayant reçu une solution d'Hoagland avec (+P) ou sans (-P) phosphore.

	Témoin (-P)	Gd(-P)	Témoin (+P)	Gd(+P)
Nombre de feuilles	19.0b	23.2a	21.0a	22.2a
Pf. des parties aériennes (g) (A)	12.32b	28.02a	17.99ab	21.84ab
Pf. des racines (g) (R)	1.67b	2.50a	1.77ab	1.90ab
R/A (p. 100)	13.6	8.9	9.8	8.7
Ps. des parties aériennes (g)	1.19b	2.85a	1.49b	2.12ab
Surface foliaire (cm ²)	148.4c	325.7a	216.3b	261.2b
M p. 100	0b	82a	0b	77a
A p. 100	0b	59a	0b	48a

TABLEAU 4 - Influence de l'endomycorhization sur la croissance, dans un sol alcalin pH 8,0 d'*Ananas comosus* variété Cayenne, clone CY5 âgé de 4 mois, inoculé avec *Glomus intraradices* (Gi) et ayant reçu une solution d'Hoagland avec (+P) ou sans (-P) phosphore.

	Témoin (-P)	Gi (-P)	Témoin (+P)	Gi (+P)
Nombre de feuilles	15.4b	20.4a	21.8a	21.2a
Pf. des parties aériennes (g) (A)	6.63b	18.98a	21.29a	21.22a
Pf. des racines (g) (R)	0.81b	1.74a	1.57a	1.96a
R/A (p. 100)	12.2	9.2	7.4	9.2
Ps. des parties aériennes (g)	0.96b	1.91a	2.37a	2.35a
Surface foliaire (cm ²)	77.4b	202.7a	234.2a	232.0a
M p. 100	0b	58a	0b	48 a
A p. 100	0b	30a	0b	26a

Pour chaque ligne du tableau, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ selon le test de NEWMAN-KEULS.

Pf. : poids de matière fraîche.

Ps. : poids de matière sèche

M p. 100 : intensité de l'infection endomycorhizienne.

A p. 100 : teneur en arbuscules.

zation de vitroplants d'ananas améliore considérablement leur croissance. Le meilleur effet endomycorhizien est obtenu dans le sol acide où sont habituellement cultivés les ananas (PY *et al.*, 1984) et quand les plantes ne reçoivent pas de phosphore. Le phosphore favorise le développement des plantes témoins, mais réduit l'effet endomycorhizien dans les sols acides et le fait disparaître dans les sols alcalins. De plus, dans ce dernier cas, l'endomycorhization amène les plantes à produire plus de racines pour pallier la perte d'efficacité de leurs organes souterrains. Ces effets sur le développement du système racinaire doivent vraisemblablement traduire des modifications physiologiques liées à la mise en place et au fonctionnement de la symbiose endomycorhizienne qui pourraient aussi expliquer, au moins partiellement, la plus grande résistance de certaines plantes endomycorhizées, vis-à-vis des différents stress biotiques et abiotiques (GIANINAZZI-PEARSON et GIANINAZZI,

1986). Ces expériences sur l'ananas montrent comme dans le cas d'autres plantes micropropagées l'intérêt d'introduire cette biotechnologie qu'est l'endomycorhization contrôlée dans les processus de production des vitroplants (GIANINAZZI *et al.*, 1988 ; CHAVEZ et FERRERA-CERRATO, 1990,; VIDAL M.T., communication personnelle).

Au moment de soumettre cette publication, nous avons eu connaissance de l'article de JAIZME-VEGA et AZCON qui vient d'être publié par cette même revue (FRUITS, 1991, 46, 1, 47-50). Cet article met aussi en évidence, dans des conditions différentes des nôtres, l'intérêt d'endomycorhizer des plants micropropagés d'ananas.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHAVEZ (MC. G.) and FERRERA-CERRATO (R.). 1990.
Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on tissue culture-derived plantlets of strawberry.
HortScience, 25, 8, 903-905.
- COTE (F.X.). 1988.
Photosynthèse et photorespiration d'une plante à métabolisme acide crassulacéen : *Ananas comosus* (L.) MERR : études des échanges gazeux.
Thèse d'Université, Université Paul Sabatier de Toulouse (Sciences), 99 p.
- GIANINAZZI (S.), GIANINAZZI-PEARSON (Vivienne) et TROUVELOT (A.). 1982.
«Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation».
Les Colloques de l'INRA n° 13, INRA-Press, Paris, 397 p.
- GIANINAZZI (S.), TROUVELOT (A.) et GIANINAZZI-PEARSON (Vivienne). 1988.
Valorisation par les endomycorhizes en agriculture : Une réflexion nécessaire pour l'arboriculture fruitière et d'ornement.
C.R. 8e Colloque sur les Recherches fruitières, INRA-CTIFL, 119-130.
- GIANINAZZI-PEARSON (Vivienne) et GIANINAZZI (S.). 1986.
Connaissances actuelles des bases physiologiques et biochimiques des effets des endomycorhizes sur le comportement des plantes.
Physiol. Veg., 24, 253-262.
- MOURICHON (X.). 1981.
Mise en évidence d'une association endomycorhizogène chez l'ananas en Côte d'Ivoire.
Fruits, 36 (12), 745-749.
- PHILIPPS (J.M.) and HAYMAN (D.S.). 1970.
Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.
Trans. Br. Mycol. Soc., 55, 158-161.
- PY (C.), LACOEUILHE (J.J.) et TEISSON (C.). 1984.
L'ananas : sa culture, ses produits.
in : «Techniques agricoles et productions tropicales».
Maisonneuve G.P. et Larose, Paris (Ve) eds, 562 p.
- RAVOLANIRINA (Florine), GIANINAZZI (S.), TROUVELOT (A.) and CARRE (Monique). 1989 a.
Production of endomycorrhizal explants of micropropagated grapevine rootstocks.
Agriculture, Ecosystems and Environment, 29, 323-327.
- RAVOLANIRINA (Florine), BLAB (B.), GIANINAZZI (S.) and GIANINAZZI-PEARSON (Vivienne). 1989 b.
Mise au point d'une méthode rapide d'endomycorhization de vitroplants.
Fruits, 44 (3), 165-170.
- TROUVELOT (A.), KOUGH (J.L.) et GIANINAZZI-PEARSON (Vivienne). 1986.
Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche des méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle.
Dans : «Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae», Gianinazzi-Pearson (Vivienne) and Gianinazzi (S.) eds.
Proceedings of the 1st European Symposium, INRA-Press, Paris, 217-221.