

Cytogénétique de l'ananas.

M. DUJARDIN*

INTRODUCTION

Cette étude a pour but d'investiguer au niveau chromosomique, à partir du matériel en collection à l'IRFA, la variabilité naturelle du genre *Ananas*. Une analyse cytogénétique sur différents cultivars d'*A. comosus* et autres espèces sauvages du genre a été entreprise au Laboratoire de Cytogénétique (Professeur BOUHARMONT) à Louvain-la-Neuve.

Le nombre de chromosomes, leur comportement à la méiose, le niveau de ploïdie sont autant de facteurs dont il faut tenir compte pour caractériser le matériel. En général, les données caryologiques sont utiles non seulement à la compréhension des relations phylogénétiques entre cultivars et espèces sauvages, mais aussi à l'étude de leur compatibilité dans les croisements. Elles contribuent à une meilleure connaissance des géniteurs à introduire dans un programme d'hybridation. Elles permettent de compléter les recherches réalisées dans le domaine des cultures de tissus *in vitro*, s'intégrant aux données obtenues par l'utilisation des techniques biochimiques et moléculaires et s'avèrent d'un intérêt certain dans l'analyse des causes de stérilité.

MISE EN PLACE DE LA COLLECTION D'ANANAS

Le matériel vivant introduit dans nos serres à Louvain-la-Neuve provient d'une part, de rejets obtenus du Centre de la Martinique (Dr. COPPENS) et d'autre part, de vitroplants cédés par le Laboratoire de Culture *in vitro* de Montpellier (Drs. DOMERGUE et TEISSON).

La collection d'*A. comosus* provenant de la Martinique se compose des variétés Cayenne (CI 10), Spanish (GU 71, GU 75, GU 85), Proche Spanish : Dos Indios (BR 47), Pernambuco (BR 01, GU 101), Queen (TA 39), Mordilona (CO 42, BR 50, BR 58) et Samba (PE 53). La collection d'espèces sauvages comprend *A. ananassoides* (GU 61, GU 62, GU 104), *A. nanus* (CI 33), *A. bracteatus* (BR 20, CI 99), *A. lucidus* (BR 67, VE 28) ainsi que l'espèce *Pseudananas saganarius* (GU 24).

Les variétés ou espèces obtenues sous forme de vitroplants incluent Queen (FI 84), Spanish (VE 67), Pernambuco (TW 12), Cayenne (BR 59), *A. paraguayensis* (VE 66) et *A. bracteatus* (BR 02).

Des inflorescences fixées des variétés Spanish (GU 85), Pernambuco (GU 101), Queen (TA 39), Mordilona (CO 42, CO 20, BR 50) et des espèces *A. ananassoides* (GU 62, GU 104, CI 33), *A. bracteatus* (BR 20) et *A. lucidus* (BR 67), ainsi que des pointes de racines fixées des cultivars Spanish (GU 85), Pernambuco (GU 101), Queen (TA 39) et Mordilona (CO 42), nous ont aussi été fournies par le Centre de la Martinique.

TECHNIQUES DE DENOMBREMENTS CHROMOSOMIQUES

Les dénombrements chromosomiques sont effectués à partir de frottis de pointes de racine. L'ananas est un matériel dont la chromatine est difficile à colorer. La technique suivante s'avère être efficace, relativement rapide, et permet de réaliser des comptages précis : 1) prétraitement des pointes de racines à l'hydroxyquinoléine (0,3 p. 100) pendant 4 à 5 heures au réfrigérateur, 2) fixation à l'alcool - acide acétique (1 : 1) pendant une heure sous vide, 3) hydrolyse HCl 5N pendant 30 minutes à température ambiante, 4) rinçage des racines à l'eau, 5) coloration au réactif de Feulgen (SHARMA et SHARMA, 1965) pendant 2 heures, 6) rinçage à l'eau, 7) stockage des racines colorées dans la glace au freezer, 8) passage dans une solution cellulase (2 p. 100) - pectinase (0,4 p. 100) pendant 1 à 2 heures, 9) écrasement du méristème radicaire dans une goutte d'hématoxyline - alun ferrique (GUPTA et BORTHAKUR, 1987). Les étapes 2, 7 et 8 peuvent être omises.

Pour l'analyse de la méiose, des anthères de jeunes boutons floraux fixés soit au Carnoy (alcool - acide acétique 3 : 1), soit au Carnoy II (alcool - chloroforme - acide acétique 6 : 3 : 1) sont écrasées dans une goutte d'acétocarmin à 2 p. 100 ou d'hématoxyline - alun ferrique.

* - Laboratoire de Cytogénétique (Prof. J. BOUHARMONT)
Faculté des Sciences, Université Catholique de Louvain
Place Croix du Sud, 4 - B - 1348 LOUVAIN-LA-NEUVE

NOMBRES CHROMOSOMIQUES

Les chromosomes de l'ananas sont nombreux et très courts, leur longueur s'échelonne de 0,5 à 1,7 micron (SHARMA et GHOSH, 1971). Le nombre chromosomique de base du genre ananas est 25 (HEILBORN, 1921 ; COLLINS et KERNS, 1931 ; CAPINPIN et ROTOR, 1937 ; HERNANDEZ, 1954 ; BHOWMIK, 1977 ; ANTONI, 1983).

Dans l'espèce *A. comosus*, nous avons dénombré 50 chromosomes somatiques pour les variétés Queen (FI 84, TA 39), Spanish (VE 67, GU 71, GU 75-1, GU 85), Pernambuco (TW 12, GU 101, BR 01), Mordilona (CO 42), Cayenne (CI 10, BR 59), Samba (PE 53) et 75 pour les variétés Cayenne (BR 59), Spanish (GU 75-2) et Proche Spanish : Dos Indios (BR 47). Chacune des espèces *A. nanassoides* (GU 67, GU 104), *A. bracteatus* (BR 20), *A. lucidus* (BR 67, VE 28) et *A. paraguayensis* (VE 66) possède 50 chromosomes.

Pour la variété Dos Indios, notre détermination confirme les résultats de BOR YAW LIN *et al.* (1987). Il est aussi intéressant de noter l'existence de cytotypes à 50 et 75 chromosomes dans deux clones du cultivar GU 75.

Pseudananas sagenarius, signalé comme tétraploïde avec $2n = 100$ chromosomes (LOISON-CABOT, 1988) n'a pas pu être étudié caryologiquement, suite au pourrissement des rejets.

Il ressort de notre analyse que la majorité des variétés et espèces analysées sont diploïdes, exception faite des cultivars Cayenne BR 50, Spanish GU 75-2 et Dos Indios BR 47 de l'espèce *A. comosus*, qui sont triploïdes.

Ainsi que l'avaient démontré plusieurs travaux (COLLINS et KERNS, 1931 ; CAPINPIN et ROTOR, 1937 ; MENDIOLA *et al.*, 1951 ; ANTONI, 1983 ; BOR YAW LIN *et al.*, 1987), le niveau diploïde est le plus fréquent dans le genre *Ananas*. Ces auteurs ont signalé aussi l'existence de cultivars triploïdes, comme Cabezona, Caicara, Monte Oscuro et Ananas Dos Indios. L'origine de ces triploïdes est à rechercher dans l'union d'une oosphère non réduite ($2n$) et d'un grain de pollen réduit (n) (COLLINS, 1933).

La tétraploïdie, moins fréquemment observée que la triploïdie, est un niveau plus aléatoire à atteindre puisqu'il nécessite la fusion de gamètes femelle et mâle, tous deux non réduits. Une tétraploïdie d'origine spontanée n'est décrite que chez le cultivar sud-africain James Queen (NYENHUIS, 1964).

ETUDE DES VITROPLANTS

Le nombre chromosomique a été précisé pour 52 vitroplants issus de 4 variétés d'*A. comosus* et de deux espèces sauvages, *A. paraguayensis* et *A. bracteatus*. Tous les individus des variétés Queen (FI 84), Spanish (VE 67) et Pernambuco (TW 12) et des espèces *A. paraguayensis* (VE 66) et *A. bracteatus* (BR 02) sont diploïdes avec $2n = 50$ chromosomes, tandis que les somaclones de la variété Cayenne (BR 59) appartiennent au cytotype triploïde ($2n = 75$).

Nos observations, bien que réalisées sur un nombre restreint d'individus, indiquent l'absence de variation dans le nombre chromosomique entre somaclones dérivés d'un même cultivar. Si des différences morphologiques se manifestent entre clones sortis de la culture *in vitro*, il paraît difficile, vu le nombre et la taille des chromosomes, de les lier à des modifications chromosomiques, à moins qu'il ne s'agisse de changements de nombre chromosomique ou de niveau de ploïdie. Généralement, la variation somaclonale est plutôt attribuée à des remaniements chromosomiques indécélables, tels que des translocations réciproques.

Le fait d'observer 75 chromosomes dans tous les clones de la variété Cayenne (BR 59) indique aussi, outre la stabilité du nombre chromosomique, la nature triploïde de cette variété et de l'explant à partir duquel sont dérivés les somaclones.

Nous avons encore noté que les vitroplants triploïdes de BR 59 ne paraissent pas phénotypiquement différents l'un de l'autre, mais se distinguent morphologiquement des trois autres variétés diploïdes étudiées par un développement végétatif beaucoup plus lent, semblable à celui déjà observé par KERNS et COLLINS (1947).

COMPORTEMENT MEIOTIQUE DES CHROMOSOMES

La méiose est rapportée comme régulière avec appariement des 50 chromosomes en 25 bivalents dans 7 variétés d'*A. comosus* analysées par COLLINS et KERNS (1931).

Un comportement méiotique semblable est décrit par BHOWMIK (1977) pour les cultivars diploïdes Queen et Kew. Cet auteur signale toutefois la présence d'univalents et d'associations secondaires regroupant jusqu'à 3 ou 7 bivalents selon le cultivar. Les irrégularités engendrées par des chromosomes « à la traîne » et des séparations inégales durant l'anaphase I, expliqueraient les variations de taille et de fertilité du pollen.

L'examen de plusieurs centaines de boutons floraux prélevés sur les diverses variétés décrites plus haut, ne nous a pas permis jusqu'ici, d'obtenir des microsporocytes au stade désiré de la diacynèse ou de la métaphase I; ceux-ci étant tantôt trop jeunes, tantôt trop âgés. ANTONI (1983), lors de son étude cytotoxonomique, s'était trouvé face à la même difficulté. Ceci indiquerait soit que le temps de division est très court, soit que le moment de fixation du matériel était inapproprié.

FERTILITE DU POLLEN

La fertilité du pollen a été étudiée à plusieurs reprises et a même été utilisée comme critère de sélection (RAMIREZ, 1966).

Selon les variétés et les auteurs, les dimensions des grains de pollen varient dans les cultivars diploïdes de 45 à 60 microns (COLLINS, 1960), de 35 à 81 microns (BHOWMIK, 1977) de 44 à 60 microns (NAYAR *et al.*, 1980) ou encore de 34 à 52 microns (ANTONI, 1983). Cette dernière ne relève pas de grains de pollen avortés

dans les 7 cultivars diploïdes qu'elle observe, alors que pour NAYAR *et al.* (1981), la fertilité du pollen varie de 2,5 à 55 p. 100 dans 15 variétés cultivées en Inde. La variété la moins fertile produisant du pollen de dimension moyenne moindre que la variété la plus fertile, il n'existe pas de relation directe entre la taille du grain de pollen et sa fertilité.

Nous avons établi des pourcentages de fertilité pour quelques variétés et espèces sauvages à partir de l'observation de 500 grains de pollen, par fleur, et également enregistré l'uniformité des grains de pollen ou leur variabilité.

Les trois espèces *A. bracteatus* (BR 02), *A. lucidus* (BR 67) et *A. ananassoides* (CI 33, GU 62, GU 104) présentent un pourcentage de fertilité du pollen proche des 100 p. 100. Les grains de pollen sont relativement de dimension uniforme au sein de chacune de ces trois espèces. Une plus grande variabilité et une fertilité moindre du pollen (86 p. 100) s'observent dans le clone CI 33 comparé aux clones GU 62 et GU 104.

Quant aux variétés Pernambuco (GU 101), Spanish (GU 85) et Queen (TA 39), la fertilité de leur pollen s'élève respectivement à 42, 43 et 53 p. 100. La taille des grains de pollen est variable dans ces trois variétés.

Les deux clones (BR 50 et CO 42) de la variété Mor-dilona diffèrent très fortement : le pollen de BR 50 est régulier concernant le diamètre des grains, avec de rares exceptions, et fertile à 90 p. 100, tandis que le pollen de CO 42, extrêmement irrégulier, n'est fertile qu'à 8 p. 100. La formation de tétrades inégales, triades, diades et grains de pollen géants a été observée, spécialement dans le clone CO 42. Ces anomalies sont sans doute le résultat de divisions inégales dans les microsporocytes ou de l'échec de la division réductionnelle.

CONCLUSIONS

Bien que l'ananas soit un matériel cytologiquement difficile à étudier en raison du nombre et des dimensions des chromosomes, la détermination du nombre chromosomique et du niveau de ploïdie ne pose pas de réel problème. Par contre, il conviendra d'établir pourquoi la méiose n'a pu être observée. De nouvelles fixations de boutons floraux devront être faites et leur examen mené à bien.

L'étude de la fertilité du pollen, utile dans l'analyse des compatibilités entre cultivars et espèces, pourrait être étendue à un plus grand nombre de plantes. De même, l'examen cytologique des variants soma-clonaux, devrait être élargi à d'autres familles de vitroplants.

L'utilisation de la polyploïdie, comme moyen d'obtention de génotypes difficiles à produire par la voie sexuée normale, mériterait d'être réévaluée (LOISON-CABOT, 1988). La triploïdie est particulièrement intéressante pour plusieurs raisons. Morphologiquement, les triploïdes d'ananas, quoique plus lents à se développer, produisent des fruits plus gros que les hybrides diploïdes F1 issus des mêmes géniteurs (COLLINS, 1933). L'hybridation permet de combiner dans un triploïde le génome entier d'une variété commerciale et la moitié du génome d'un autre cultivar ou espèce sauvage possédant des caractéristiques désirables, mais absentes dans la variété commerciale. Les génotypes triploïdes les plus performants seraient sélectionnés et multipliés. L'autostérilité qui caractérise les triploïdes est une justification supplémentaire d'une telle sélection.

Des autotétraploïdes pourraient être produits par colchicination *in vitro* de variétés diploïdes choisies. Ces autotétraploïdes, sans doute peu productifs et autostériles, seraient utilisés comme parent femelle dans les croisements destinés à produire des triploïdes. La tétraploïdie devrait aussi aider à surmonter les obstacles résultant de l'incompatibilité entre cultivars et/ou espèces sauvages.

BIBLIOGRAPHIE

- ANTONI (M.G.). 1983.
Taxonomy and cytogenetics of pineapple.
MS Thesis, Florida Univ., 78 p.
- BHOWMIK (G.). 1977.
Meiosis in two varieties of pineapple.
Ind. J. Genetics and Plant Breeding, 37 (1), 1-4.
- BOR YAW LIN, RITSCHER (P.S.) and FERREIRA (F.R.). 1987.
Número cromosômico de exemplares da família Bromeliaceae.
Rev. Bras. Fruticult., 9 (2), 49-56.
- CAPINPIN (J.H.) and ROTOR (G.B. Jr.). 1937.
A cytological and morphogenetic study of some pineapple varieties and their mutant and hybrid derivatives.
Philippine Agr., 26, 139-158.
- COLLINS (J.L.). 1933.
Morphological and cytological characteristics of triploid pineapples.
Cytologia, 4, 248-256.
- COLLINS (J.L.). 1960.
The pineapple, botany, cultivation and utilization.
Leonard Hill Ltd, London, 294 p.
- COLLINS (J.L.) and KERNS (K.R.). 1931.
Genetic studies of the pineapple.
I.- A preliminary report upon the chromosome number and meiosis in seven pineapple varieties (*Ananas sativus* Lindl.) and in *Bromelia pinguin* L.
J. heredity, 22, 139-142.
- GUPTA (H.S.) and BORTHAKUR (D.N.). 1987.
Improved rate of callus induction from rice anther culture following microscopic staging of microspores in iron alum-haematoxylin.
Theor. Appl. Genet., 74, 95-99.
- HEILBORN (O.). 1921.
Notes on the cytology of *Ananas sativus* Lindl. and the origin of its parthenocarpy.
Arkiv. F. Botanik, 17, 1-7.
- HERNANDEZ (A.R. de). 1954.
Relationship between chromosome number and somatic size in certain pineapple varieties.
J. Agr. Univ. Puerto Rico, 38, 199-204.
- KERNS (K.R.) and COLLINS (J.L.). 1947.
Chimeras in the pineapple.
Colchicine-induced tetraploids and diploid-tetraploids in the Cayenne variety.
J. Hered., 38, 322-330.
- LOISON-CABOT (Chantal). 1988.
Amélioration génétique de l'ananas : exemple de création variétale, analyse des ressources génétiques disponibles.
Th. Dr. Sc., Univ. Paris-Sud, Centre d'Orsay, 193 p.
- MENDIOLA (N.B.), CAPINPIN (J.H.) and MERCADO (T.M.). 1951.
Pineapple breeding in the Philippines 1922-1941.
Philippine J. Agr., 16, 51-84.

NAYAR (N.K.), VALSAMMA (K.R.) and MATHEW LYLA. 1980.
Varietal variations on pollen size and fertility in pineapple
(*Ananas comosus* L. Merr.).
Pineapple Research Centre, Kerala, Agric. Univ.

NYENHUIS (E.M.). 1964.
James-Queen, a new pineapple variety.
Farming in S. Afr., 40 (8), 54-56.

RAMIREZ (O.D.). 1966.
The report on pollen fertility as a selection criterion in pineapple.
J. Agric. Univ. Puerto Rico, 50, 231-240.

SHARMA (A.K.) and GHOSH. 1971.
Cytotaxonomy of the family Bromeliaceae.
Cytologia, 36, 237-247.

SHARMA (A.K.) and SHARMA (A.). 1965.
Chromosome techniques : theory and practice.
Butterworths, London, 474 p.