

Croissance des plants d'ananas issus de culture *in vitro*, pendant la phase d'acclimatation.

M. FOLLIOT et J. MARCHAL

INTRODUCTION

Les plants d'ananas obtenus par des techniques de culture *in vitro* (COTE et col., 1991) doivent être sevrés et endurcis en pépinière avant d'être transférés au champ. La période d'acclimatation varie de 5 à 12 mois. Elle peut affecter la rentabilité de ce mode de multiplication. Sa durée dépend du génotype utilisé, des techniques de culture et des conditions climatiques (rayonnement, température).

L'influence du support de culture sur la vitesse de croissance des plants a déjà été étudiée (FOLLIOT et MARCHAL, 1990).

Dans cet essai, conduit en serre tropicalisée à Montpellier, nous avons cherché à mettre en évidence :

- d'une part la croissance en phase d'acclimatation du cultivar d'ananas 'Cayenne lisse' en conduisant la culture dans des conditions les plus favorables possibles ; il devrait être ainsi possible de proposer des modes de conduite de culture permettant d'améliorer et d'accélérer la croissance ;

- d'autre part de confirmer, sur une plus large gamme de poids de plants, les relations entre la surface foliaire totale et la surface projetée obtenue d'après des prises de vues photographiques, mises en évidence dans un essai précédent (FOLLIOT, 1990), et donc de proposer une méthode non destructive d'évaluation de l'état de développement des plants.

MATERIEL ET METHODES

Deux cents plants du cultivar 'Cayenne lisse' issus de culture *in vitro*, fournis par la société Vitropic, sont installés dans des conteneurs individuels de deux litres. Le substrat choisi est un mélange volume à volume de terreau et de perlite, qui a donné les meilleurs résultats dans un essai de comparaison de différents supports de culture (FOLLIOT et MARCHAL, 1990). Six grammes d'engrais à libération lente (Osmocote plus 10-11-18-2) sont incorporés dans chaque conteneur.

Les paramètres climatiques sont les suivants :

- température jour-nuit : 28-22°C
- lumière : 500 à 600 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}^1$
- hygrométrie : 70 à 90 p. 100 de la saturation.

Les plants sont pesés individuellement avant leur mise en culture et répartis en trois classes de poids : 1, 1,5 et 2 g. Après quatre mois et demi de culture, les plants d'ananas sont transférés dans des conteneurs de 5,5 litres avec nouvel apport d'engrais (6 g) pour éviter tout ralentissement de leur croissance, le volume des bacs de deux litres pouvant devenir limitant. L'essai a duré six mois et demi.

Toutes les quatre semaines, quinze plants sont photographiés avant d'être échantillonnés. L'évolution de leur croissance est suivie en mesurant pour chaque plant :

- la masse de matière fraîche (parties aériennes et racinaires),
- la masse de matière sèche,
- la surface projetée d'après photographie,
- la surface foliaire totale.

Des analyses minérales sont également effectuées pour suivre l'évolution des teneurs et des quantités d'éléments minéraux immobilisés dans les plants.

RESULTATS.

Croissance pondérale des plants.

Durant les six mois et demi, durée de l'expérimentation, l'accroissement de la masse des plants de chacune des trois classes de poids (1, 1,5 et 2 g) évolue parallèlement (figure 1) ; le poids moyen final est de 334 g. L'écart de développement à la fin de la phase *in vitro* est maintenu pendant la phase *in vivo*. L'homogénéité des plants en fin de la phase *in vitro* est donc importante pour la suite de la culture. Un tri par classes de tailles ou de poids à la mise en place des plants pour le sevrage est recommandé.

A la fin de la phase de croissance *in vitro*, les plants d'ananas possèdent peu ou pas de racines. Le gain de masse de matière fraîche (13 p. 100) pendant le premier mois

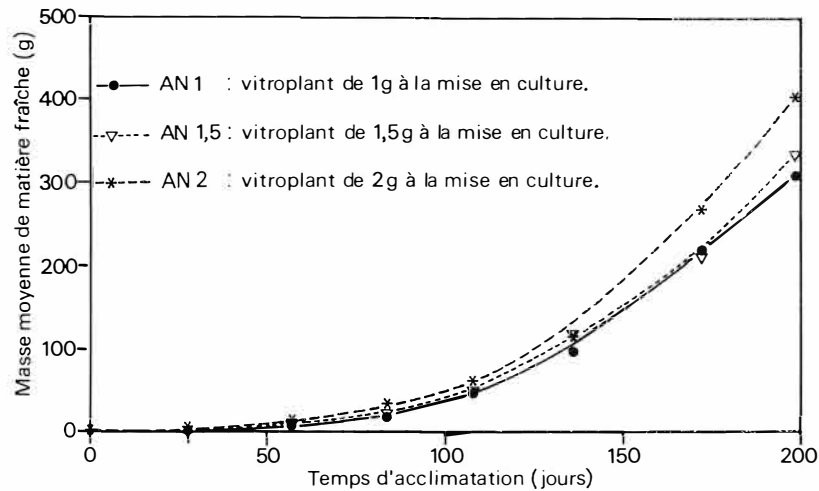


Fig. 1 • Evolution de la masse de matière fraîche de plants d'ananas pendant la phase d'acclimatation : effet de la masse initiale des plants en fin de phase *in vitro*.

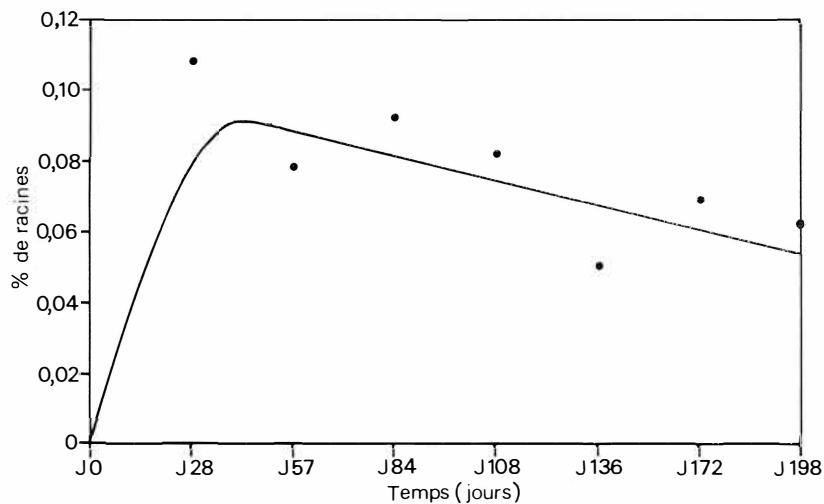


Fig. 2 • Evolution de la masse de matière fraîche des racines en fonction de la masse totale du plant pendant la phase d'acclimatation.

d'acclimatation est dû, pour une forte proportion, à l'émission et au développement du système racinaire (LACOEUILHE, 1976). Le pourcentage de la masse de racines par rapport à la masse totale, fraîche ou sèche, décroît ensuite au cours de la culture (figure 2).

La teneur en matière sèche des plants s'accroît légèrement et très progressivement pendant toute la durée de la phase d'acclimatation.

Surface foliaire totale - Surface projetée.

Les surfaces foliaires totales et projetées de chaque plant ont été mesurées suivant la méthode précédemment décrite (FOLLIOU, 1990 ; BEERLING et FRY, 1990).

La surface projetée obtenue à partir de prises de vues photographiques augmente moins vite dans le temps que la surface foliaire totale (figure 3). En effet, le nombre de

feuilles successivement émises, localisées sur le même axe vertical et se recouvrant en projection, augmente progressivement. La relation entre ces deux surfaces reste cependant linéaire (figure 4). La relation entre la surface projetée et la masse de matière fraîche est d'allure parabolique (figure 4).

Nous avons également calculé à chaque date de prélèvement les corrélations entre :

- la surface projetée et la masse de matière fraîche d'une part,
 - la surface projetée et la surface foliaire totale d'autre part,
- et suivi leur évolution au cours de l'expérimentation (figure 5).

Ces corrélations, établies à partir de la surface projetée, varient en fonction de l'évolution de la masse de matière fraîche des plants au cours de la phase d'acclimatation.

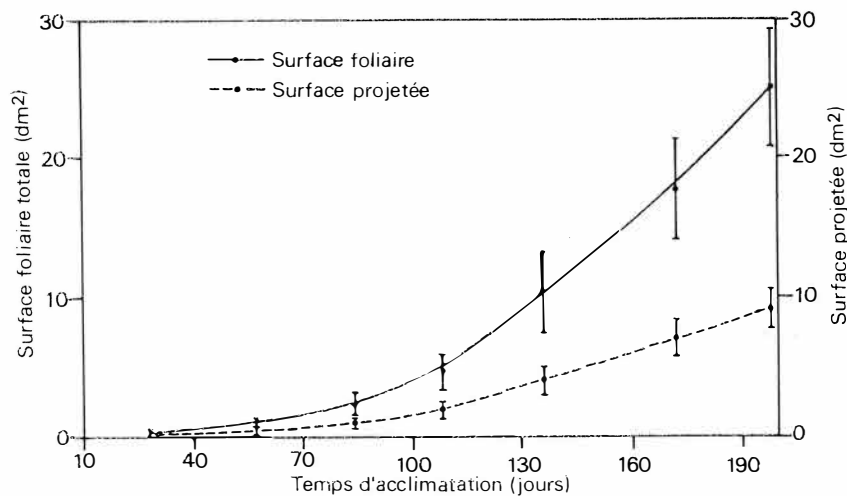


Fig. 3 • Evolution de la surface foliaire totale et de la surface projetée de plants d'ananas pendant la phase d'acclimatation. (Chaque point représente une moyenne de 15 valeurs, les intervalles de ± 1 écart-type sont figurés).

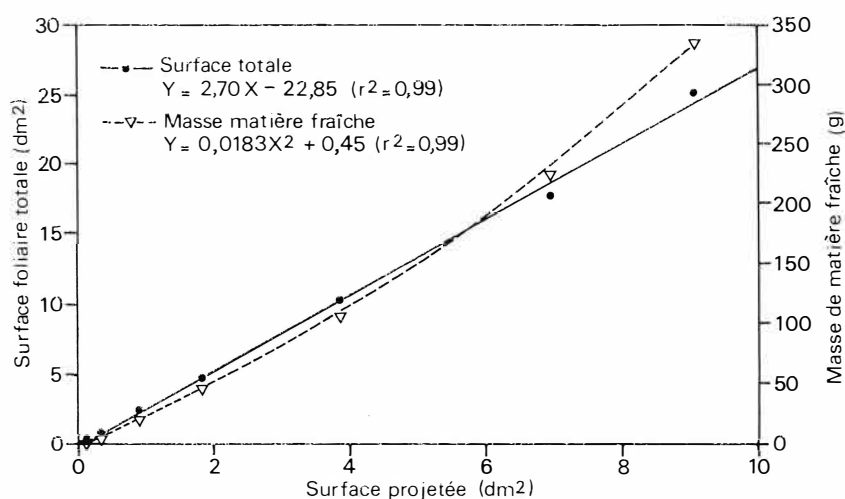


Fig. 4 • Relation entre surface projetée et surface totale (ajustement linéaire) ou masse de matière fraîche (ajustement parabolique) de plants d'ananas. (Chaque point représente une moyenne de 15 valeurs).

Différenciation des feuilles.

Au moment de l'échantillonnage des plants, toutes les feuilles sont comptées. L'évolution de l'émission foliaire est linéaire au début de la croissance *in vivo* (figure 6). Après quatre mois et demi, ce rythme se ralentit, probablement en raison du choc de la transplantation des plants, à cette date, dans des conteneurs de 5,5 litres. LACOEUILHE et PY ont observé que la croissance de la feuille augmente avec l'âge du plant : les feuilles successives sont de plus en plus longues, larges et lourdes au même âge (LACOEUILHE et PY, 1974). La masse de matière fraîche du plant augmente alors que le nombre de feuilles émises diminue. Cela traduit un accroissement rapide de la surface des feuilles et de leur masse (figure 7).

Analyses minérales des plants.

Des analyses minérales ont été effectuées sur les parties aériennes et racinaires des plants. La teneur en azote des organes aériens, très élevée à la fin de la phase *in vitro*, décroît régulièrement (figure 8). A six mois et demi, il est possible d'isoler sur chaque plant une ou deux feuilles D (feuille de référence pour le diagnostic foliaire de l'ananas) (LACOEUILHE, 1984). Leur composition en N, P, K et Mg est comparable à celle des feuilles D de plants cultivés au champ et correctement alimentés. Par contre, le taux de calcium est très élevé (voisin de 3 p. 100). La transformation des données sous forme logarithmique, en dilatant l'échelle pour les faibles valeurs, permet de visualiser une augmentation très importante de la quantité de calcium immobilisée par chaque plant pendant la phase d'acclimatation (figure 9b). Ces quantités de calcium dépassent les quantités apportées à la plantation (engrais + substrat).

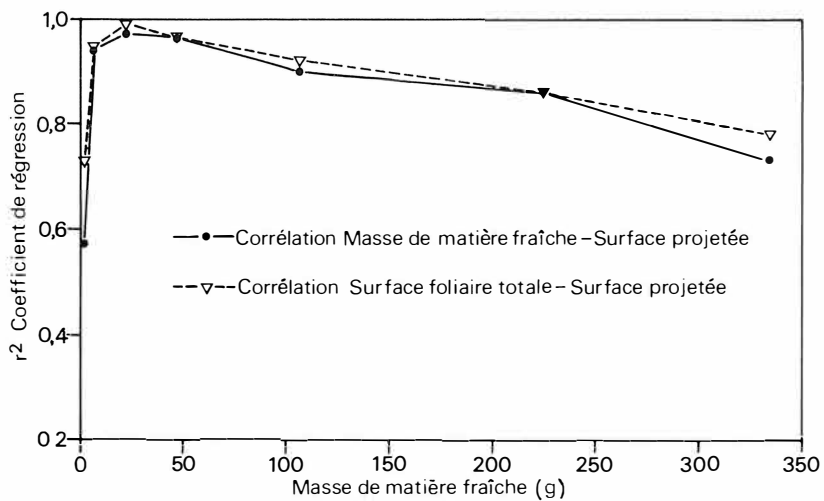


Fig. 5 • Evolution des corrélations entre masse de matière fraîche et surface foliaire totale ou surface projetée de plants d'ananas.

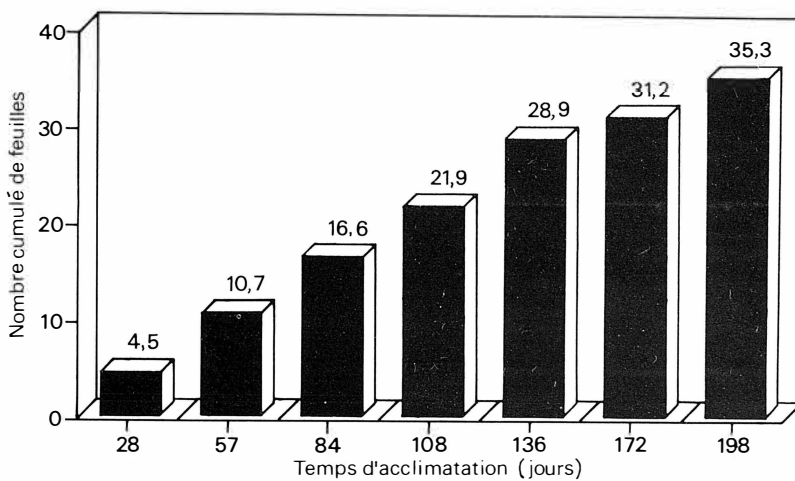


Fig. 6 • Evolution du nombre de feuilles vivantes au cours de la culture.

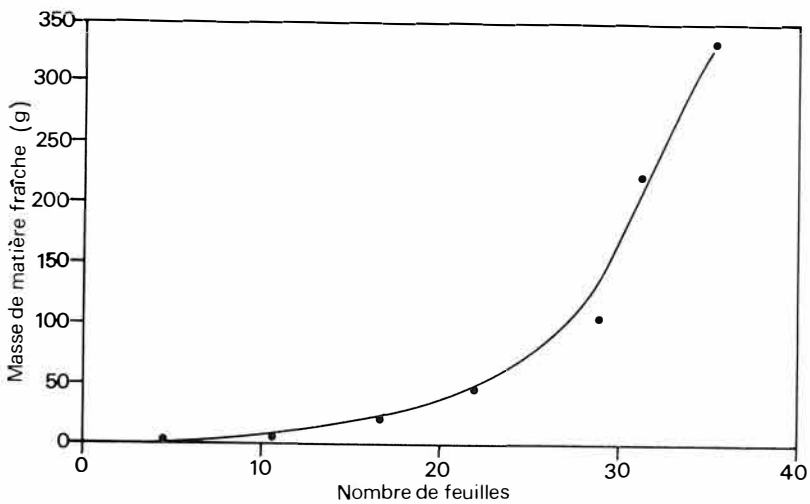


Fig. 7 • Relation entre masse de matière fraîche et nombre de feuilles vivantes par plant d'ananas au cours de la culture.

Cette augmentation est due très probablement à la pulvérisation régulière (deux fois par jour) des plants par une eau très chargée en calcium (1,2 p. 100). Une part importante de ce calcium (20 p. 100) est en fait déposée à la surface des feuilles qui n'ont pas été lavées avant l'analyse. La proportion de calcium effectivement présent dans les tissus est donc inférieure aux teneurs mesurées.

Le rapport potassium/azote (K/N) dans les vitroplants d'ananas est égal à 1,1. Dès leur plantation, ce rapport augmente pour atteindre une valeur de 1,6. On peut expliquer cette augmentation par :

- l'assimilation du potassium qui se fait avec un meilleur rendement que celle de l'azote (MARTIN-PREVEL, 1959),
- la teneur très élevée de l'azote à la sortie de la phase *in vitro*, qui décroît ensuite au fur et à mesure de la croissance du plant.

Après le changement de conteneur, avec le nouvel apport d'engrais, ce rapport augmente encore pour atteindre 1,8.

Les quantités d'éléments minéraux contenues dans les plants s'accroissent régulièrement en fonction de leur développement (figure 9a).

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'étude de l'évolution de la croissance des plants de 'Cayenne lisse' pendant la phase d'acclimatation a permis de mettre en évidence ou de confirmer les points suivants :

- Pendant les trois premiers mois de la phase *in vivo*, la quantité d'eau accumulée par unité de surface augmente très rapidement (figure 10). Cette augmentation de la succulence au début de la phase *in vivo* est liée à un fort développement du nombre et de la taille des cellules du mésophylle (COTE, 1988). L'évolution de cette succulence peut être liée à celle de l'intensité du métabolisme CAM de la plante. Les ananas issus de culture *in vitro* présentent une photosynthèse qui évolue avec l'âge du plant d'un type de fixation proche de la voie C3 vers un métabolisme crassulacéen comparable à celui des plants issus de rejet (ANDRE *et al.*, 1986 ; COTE, 1988).

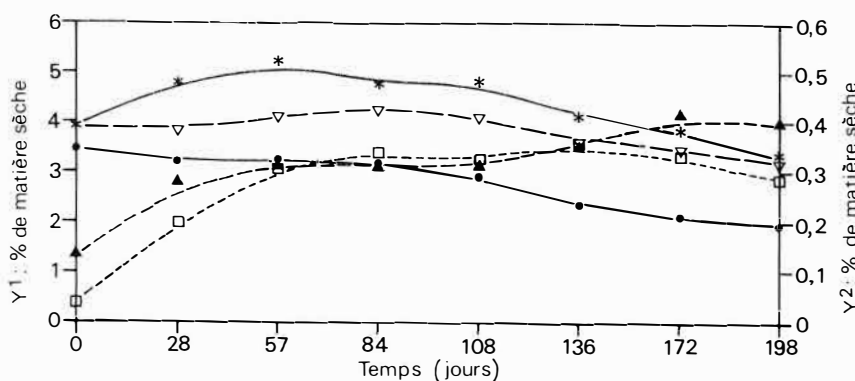


Fig. 8 • Evolution des teneurs en éléments minéraux de plants d'ananas pendant la phase d'acclimatation.

Y1 : —●— Azote - - □ - - Calcium —*— Potassium
 Y2 : - - ▽ - - Phosphore - - ▲ - - Magnésium

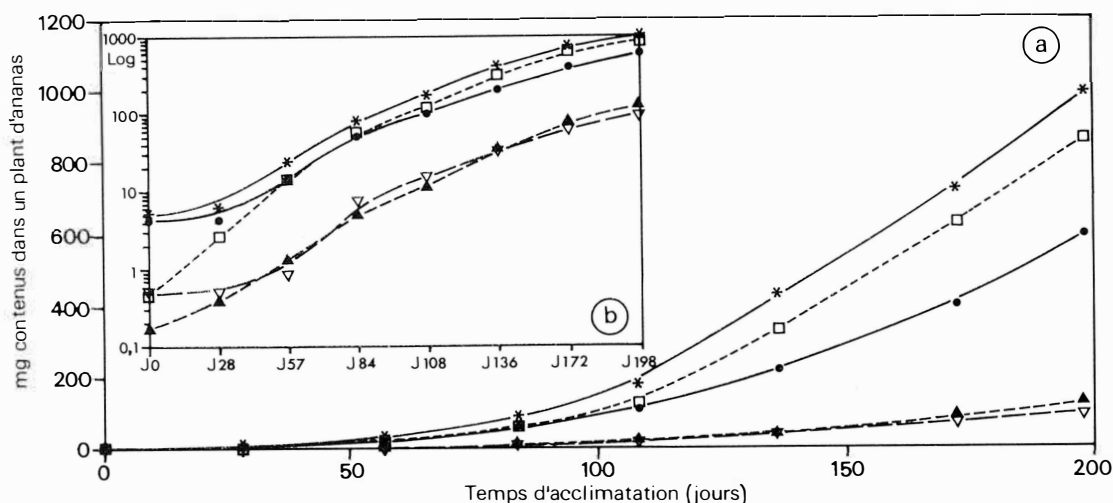


Fig. 9 • a) Evolution des quantités d'éléments minéraux contenus dans un plant d'ananas pendant la phase d'acclimatation.

b) Représentation logarithmique.

—●— Azote - - □ - - Calcium —*— Potassium - - ▽ - - Phosphore - - ▲ - - Magnésium

● Le suivi de l'évolution des corrélations entre la surface projetée et la surface foliaire totale ou la masse de matière fraîche révèle une imprécision des mesures de surface (certainement liée à la méthode utilisée) très importante pour des plants dont la masse varie de 1 à 3 g (figure 4). La précision de la méthode augmente très rapidement pour atteindre un maximum pour des plants d'environ 30 grammes. Elle diminue ensuite lentement avec l'augmentation de la masse du plant probablement en liaison avec la disposition spatiale des feuilles qui se recouvrent. Cette méthode non destructive permet donc une bonne estimation de la croissance des plants d'ananas pendant la phase d'acclimatation.

Dans les conditions de l'étude, le développement atteint par les plants après quatre mois et demi de culture (matière fraîche = 106 g en moyenne) permettrait leur transfert au champ. Les facteurs qui ont favorisé cette croissance très rapide peuvent être les suivants :

- des conditions de culture plus aisément contrôlées en serre tropicalisée qu'en milieu naturel,

- une phase diurne particulièrement longue durant l'expérimentation, d'avril à octobre (maximum 16 h en juin et minimum 11 h en octobre), favorisant le potentiel de production de matière sèche qui s'accroît avec la quantité de rayonnement solaire absorbé par la plante (FRIEND et LYDON, 1978 ; PY *et al.*, 1984 ; MALEZIEUX, 1990).

- la culture en conteneurs de volume important (2 litres et 5,5 litres) est possible pour un petit nombre d'individus ; elle

est favorable au développement racinaire et par conséquence à une croissance améliorée des plants. Mais dans la pratique agricole, les surfaces de pépinière nécessaires seraient trop importantes. Les résultats doivent être comparés à ceux obtenus à grande échelle (plusieurs milliers de plants) en Martinique et qui ont permis d'obtenir des plants pouvant être transférés au champ en 8 mois (MARIE F., communication personnelle).

Cette expérimentation a été conduite en tentant de réduire les facteurs limitant la croissance des plants. Dans la pratique, il est difficile de fixer une durée précise de la phase d'acclimatation qui peut varier très largement en fonction du génotype utilisé, des conditions de culture et climatiques liées à la zone géographique.

Pour améliorer la rentabilité de ce mode de multiplication des plants d'ananas obtenus par culture *in vitro*, il faut réduire cette durée. L'influence des facteurs (température, pluviosité, luminosité, etc.) favorisant ou limitant la croissance des plants d'ananas issus de rejet est certainement la même pour des plants issus de culture *in vitro*. Un des facteurs limitants est très probablement un ombrage souvent excessif durant les premiers mois en pépinière. Ce dernier doit être modifié en fonction des conditions saisonnières.

Cet essai a également permis de confirmer l'intérêt de la méthode non destructive permettant d'estimer la croissance des plants d'ananas pendant la phase d'acclimatation.

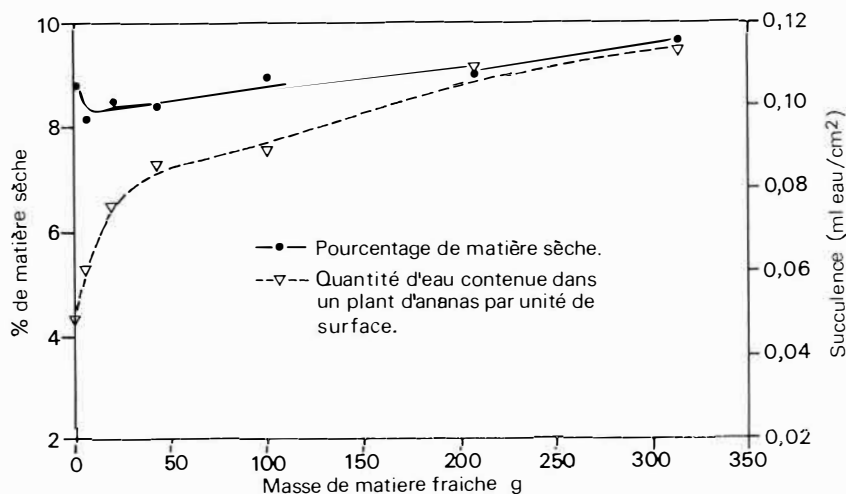


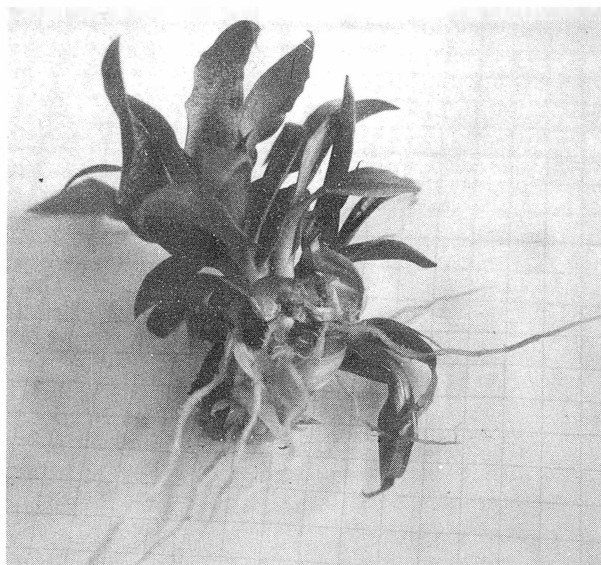
Fig. 10 • Evolution du pourcentage de matière sèche et de la succulence des plants d'ananas en fonction de leur masse de matière fraîche.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été effectués avec la collaboration de Mmes Chantal JEANJEAN, Monique BARDEAU et de M. François-Michel BEAUDON pour la réalisation des analyses minérales des plants d'ananas.



Vitroplants en acclimatation.



BIBLIOGRAPHIE

- ANDRE (M.), COTE (F.), DAGUENET (A.), MASSIMINO (D. et J.), FOLLIOT (M.) et RICHAUD (C.). 1986.
Etude de photosynthèse et de photo-oxydation chez les plantes supérieures. Instrumentation, méthodes et exemples de mesures chez l'ananas.
6e Colloque sur les Recherches fruitières, Bordeaux, p. 155-165.
- BEERLING (D.J.) and FRY (J.C.). 1990.
A comparison of the accuracy, variability and speed of five different methods for estimating leaf area.
Annals of Botany, 65, 483-488.
- COTE (F.). 1988.
Photosynthèse et photorespiration d'une plante à métabolisme acide crassulacéen : *Ananas comosus* L. MERR.
Thèse de Doctorat de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, 99 p.
- COTE (F.), DOMERGUE (R.), FOLLIOT (M.), BOUFFIN (J.) et MARIE (F.). 1991.
Micropropagation *in vitro* de l'ananas.
Fruits, à paraître.
- FOLLIOT (M.). 1990.
Détermination par une méthode non destructive de la surface foliaire de plants d'ananas et de bananiers, issus de culture *in vitro*, en phase d'acclimatation.
Fruits, 45 (3), 245-249.
- FOLLIOT (M.) et MARCHAL (J.). 1990.
Influence du support de culture sur la vitesse de croissance des vitroplants d'ananas en phase d'acclimatation.
Fruits, 45 (4), 367-376.
- FRIEND (J.C.) and LYDON (J.). 1978.
Effect of daylength on flowering, growth and CAM of pineapple [*A. comosus* (L.)].
Bot. Gaz., 140 (3), 280-283.
- LACOEUILHE (J.J.). 1976.
Croissance de l'ananas en fonction du type de rejet et de la fumure. Bilans en matière fraîche et sèche et en éléments minéraux.
Réunion annuelle IRFA, doc. interne n° 11.
- LACOEUILHE (J.J.) et PY (C.). 1974.
La croissance de la feuille d'ananas en Côte d'Ivoire.
Fruits, 29 (11), 709-715.
- LACOEUILHE (J.J.). 1984.
L'analyse végétale dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales. Chapitre Ananas, p. 675-694.
Coordonnateurs : MARTIN-PREVEL (P.), GAGNARD (J.) et GAUTIER (P.). Ed. Technique et Documentation, Lavoisier.
- MALEZIEUX (E.). 1990.
Interception du rayonnement solaire par un couvert d'ananas. Relation avec l'indice foliaire.
Réunion annuelle 1990, doc. 38, 11 p.
- MARTIN-PREVEL (P.). 1959.
Aperçu sur les relations croissance-nutrition minérale chez l'ananas.
Fruits, 14 (3), 101-122.
- PY (C.), LACOEUILHE (J.J.) et TEISSON (C.). 1984.
L'ananas, sa culture, ses produits.
Ed. Maisonneuve et Larose, Paris, 562 p.