

L'amélioration génétique des bananiers à l'IRFA/CIRAD.

F. BAKRY, J.P. HORRY, C. TEISSON,
H. TEZENAS DU MONTCEL et J. GANRY

De très lourdes menaces parasitaires pèsent actuellement sur les productions de plantains et de bananes «dessert» : la Cercosporiose noire (ou maladie des raies noires) due à *Mycosphaerella fijiensis*, la maladie de Panama (fusariose), la maladie de Moko (bactériose), le virus du Bunchy Top, les nématodes, le charançon.

Face à toutes ces menaces de plus en plus pressantes, les techniques de lutte chimique sont, ou bien inefficaces, ou bien inutilisables, ou bien onéreuses.

La seule alternative, pour éviter la disparition des productions, est la création et/ou la sélection de variétés résistantes aux principales maladies et en priorité à *Mycosphaerella fijiensis* qui constitue aujourd'hui la menace la plus importante.

LES ACQUIS EN MATIERE D'AMELIORATION DES BANANIERS

Les travaux menés en génétique par l'IRFA ont surtout contribué à ce jour, à acquérir une meilleure connaissance du complexe d'espèces des bananiers.

L'étude des travaux antérieurs montrait que, à l'exception de la collection du Honduras, la prospection du matériel végétal avait surtout consisté à collecter des clones cultivés triploïdes mais très peu d'espèces sauvages ou clones diploïdes.

Le seul matériel dont on a pu disposer se constituait des clones déjà très bien étudiés par les équipes anglaises. Cette base génétique très étroite ne pouvait alors servir de support à la mise en place d'un programme d'amélioration génétique des bananiers.

Parce qu'obstacle majeur en matière d'amélioration, les études fondamentales se sont focalisées sur la recherche et l'origine des causes de la stérilité chez les bananiers. De précieuses études de cytologie ainsi que l'analyse phénotypique d'hybrides (naturels ou non), ont apporté de nombreuses informations sur la structuration des populations naturelles. Un schéma évolutif des espèces sauvages vers les

clones cultivés a pu ainsi être proposé.

Cependant, force est de constater qu'en matière d'amélioration, nous ne disposons à ce jour que de très peu d'informations fiables sur la base du déterminisme génétique des caractères qui nous intéressent chez le bananier, et ce, en raison peut-être, du nombre restreint de clones, de plus très peu fertiles, déjà étudiés jusqu'à présent.

Un des premiers objectifs a donc été d'augmenter la quantité de matériel à étudier par l'accroissement des collections. Cette action a pu être menée à travers des prospections et des échanges de matériel végétal avec nos partenaires (Annexe IV).

L'étude d'un grand nombre d'individus a permis, outre l'établissement d'une fiche descriptive standard, la mise au point d'un logiciel informatique d'aide à la détermination (MUSAID). Conjointement, l'approche biochimique de la taxonomie par des marqueurs moléculaires, nous a apporté des informations essentielles sur la structuration du complexe d'espèces et nous a permis de préciser les relations entre les espèces sauvages et les cultivars diploïdes et triploïdes, en particulier pour les nouvelles accessions - notamment en mettant en évidence la forte diminution de la base génétique, c'est-à-dire la variabilité génétique des variétés cultivées par rapport à leurs ancêtres sauvages.

L'étude d'une grande collection nous a permis aussi de compléter les données dont on disposait sur les composantes de la stérilité chez le bananier (voir Annexe I) afin de mieux la connaître et la gérer dans la stratégie d'amélioration. Il s'agit, en effet, de restaurer une bonne fertilité pour permettre un bon brassage génétique (essentiel pour une véritable amélioration) dans les étapes initiales du programme puis, de restaurer ensuite la stérilité dans la dernière phase pour l'obtention de clones à fruits aspermes.

Les données acquises, ainsi que les réflexions qui s'en sont suivies, nous ont apporté un grand nombre d'éclaircissements. Cette meilleure compréhension de la stérilité nous autorise à envisager maintenant une stratégie cohérente pour l'amélioration par croisement (voir plus loin).

Face à des problèmes posés par l'amélioration classique par hybridation des bananiers (stérilité, encombrement, etc.), l'IRFA s'est résolument engagé aussi, dès 1982, dans la voie des vitrométhodes. Il s'agissait alors de résoudre un certain nombre de problèmes, en particulier, de contourner les barrières reproductives (par la culture de protoplastes notamment). Compte tenu de la très grande rareté d'informations dans ce domaine à l'époque, il a fallu dans un premier temps «apprivoiser» la plante et acquérir une bonne pratique de la culture des tissus de bananiers *in vitro* et ce, avant de songer à pousser les investigations plus loin au niveau cellulaire.

Après huit années d'études menées par l'IRFA de concert avec des équipes associées, peu de tissus ou d'organes ont résisté aux investigations. Nous sommes en mesure aujourd'hui de produire des cals à partir de n'importe quel tissu de bananier mais surtout des régénérations de plantes avec une bonne partie d'entre eux. Ces dernières s'opèrent d'ailleurs aussi bien par néoformations directes que par embryogenèse somatique (voir Annexe II).

L'acquisition d'une expérience donne des réflexes aux praticiens de la culture *in vitro*. Elle laisse présager maintenant des résultats rapides au niveau cellulaire (cellules isolées, protoplastes).

Les méthodes de cultures *in vitro* sont intervenues plus classiquement aussi par l'appui essentiel qu'elles ont apporté au programme d'hybridation à travers la culture de méristèmes, d'embryons, et les doublements de chromosomes à la colchicine.

STRATEGIE DE SELECTION/AMELIORATION PAR HYBRIDATION DU BANANIER.

La sélection de clones performants peut se faire à partir de plantes issues d'amélioration mais aussi, dans un premier temps et plus facilement, avec du matériel tiré de collections. On voit bien ici l'intérêt d'enrichir nos collections par des missions complémentaires de prospection dans des zones potentiellement intéressantes, notamment en terme de résistances (les bananiers de la région nord de l'Asie du Sud-Est - Assam, Birmanie, Vietnam - sont très imparfaitement représentés en collections, alors que la résistance à la maladie des raies noires est associée aux types sauvages endémiques).

Sélection massale.

La prospection de matériel végétal a notablement enrichi les collections en clones susceptibles d'être utilisés directement et encore totalement sous-exploités. Il convient d'évaluer ce matériel en différentes stations environnantes avec une attention particulière pour leurs résistances à la maladie des raies noires (19).

Une exploitation plus large des clones de divers groupes s'avère alors nécessaire [substitution, par exemple, des 'Plantains' (AAB) par des 'Saba' (ABB) ou des 'Pelipita' (ABB)].

Pour les bananes dessert, les clones 'Yangambi Km 5' (AAA), 'Gorolo' (Mysore-AAB), ou ceux du groupe 'Pi-

sang Awack' (ABB) sont tout à fait acceptables par bien des points de vue. Il y aurait d'autres exemples.

En conclusion, une stratégie de substitution que nous savons possible ailleurs (exemple du Brésil ou de Cuba) ne doit plus être écartée *a priori*. Face à une nécessité urgente (disparition d'un type variétal), nous devons nous garder la possibilité de proposer des variétés de remplacement.

Amélioration/Sélection par hybridation.

Il convient de préciser qu'on n'améliorera pas un, mais des bananiers, pour répondre, déjà, aux variations des populations de pathogènes et aussi à des conditions ambiantes de culture ou des goûts variés.

La stratégie d'amélioration doit être envisagée à deux vitesses : l'une à court terme mais à potentiel très limité, l'autre à long terme, reposant sur une large base génétique, recombinante et récurrente.

● A court terme.

A court terme (4 à 10 ans ?), les seules solutions envisageables reposent sur la production de tétraploïdes (croisement 3X x 2X porteurs de gènes de résistances) selon le schéma utilisé dans le passé pour conférer au 'Gros Michel' (AAA) la résistance à la maladie de Panama. Il s'agit alors d'associer la totalité du génome du cultivar utilisé comme parent femelle, récupéré par l'obtention d'un noyau de restitution triploïde à des résistances aux maladies apportées par le génome haploïde du parent mâle (figure 1).

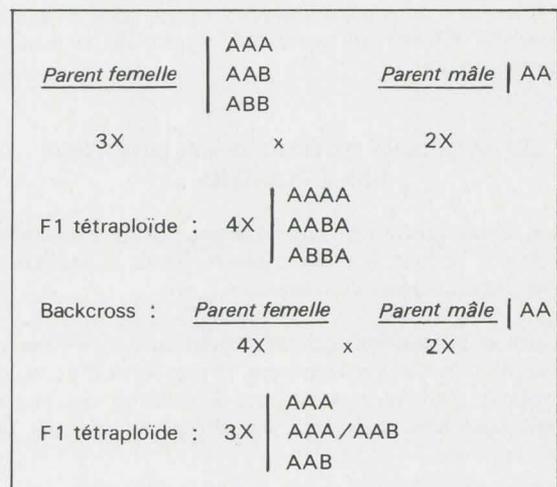


Fig. 1 * SCHEMA CONVENTIONNEL D'HYBRIDATION POUR L'AMELIORATION DES BANANIERES CULTIVES.

L'absence de méiose du côté femelle permet de restituer dans son ensemble, les qualités agronomiques du parent, objet le plus souvent d'une sélection artificielle très poussée.

La sélection s'opère ainsi directement sur les hybrides (F1). Selon la nature du parent mâle utilisé, les descendances tétraploïdes sélectionnées sont inférieures ou équivalentes au parent femelle utilisé (29).

Cette méthode conventionnelle qui a échoué pour les

bananiers d'exportation (conditions de transport/commercialisation trop exigeantes, utilisation des 'Cavendish' pour remplacer 'Gros Michel') peut présenter un intérêt dès lors qu'on s'adresse à des bananiers d'autoconsommation ou de marché local (32).

Pour les bananiers à cuire, certains 'Plantains' (37) et les clones du groupe 'Popoulou' (très proche des précédents d'un point de vue gustatif) donnent des graines lorsqu'ils sont pollinisés par des espèces sauvages. Il reste à vérifier, avant de pousser plus loin les investigations, que ces bananiers donnent aussi bien des noyaux de restitutions (obtention de descendants 4n), ce que nous ne savons pas encore et si oui, sous quelles conditions.

Si ce schéma répond à nos objectifs à brève échéance, il n'en demeure pas moins qu'il est tout à fait insuffisant et non satisfaisant. La variabilité génétique reste très étroite : nulle du côté femelle, elle est réduite au parent mâle qui présente une plus ou moins grande hétérozygotie. C'est une amélioration en "cul-de-sac"; il faut à chaque fois revenir à un nouveau parent mâle pour obtenir de nouveaux hybrides (d'où l'effort porté sur l'amélioration des parents mâles diploïdes - 29).

L'utilisation des tétraploïdes hybrides pour de nouveaux croisements en backcross avec un parent diploïde, pour obtenir des triploïdes (figure 1) paraît un schéma difficilement envisageable. L'éclatement de la variabilité qui résulte de l'intervention de la méiose sur une structure fortement hétérozygote comme le clone tétraploïde (voir Annexe III), entraîne une multitude de recombinaisons difficilement exploitables compte tenu des ressources matérielles disponibles (trop grand nombre d'individus à cribler).

● A long terme.

A long terme (20 ans minimum) la stratégie est tout autre. Elle consiste à augmenter progressivement la valeur des produits d'amélioration tout en précisant la variabilité génétique durant le cycle de sélection. C'est, à notre avis, la seule voie possible pour éviter les écueils cités plus haut.

Le schéma que nous proposons (figure 2) suppose l'amélioration de populations diploïdes *acuminata* sélectionnées en fonction de nos objectifs (plantains ou bananiers doux), porteuses de gènes de résistances et/ou de caractéristiques agronomiques et gustatives favorables, apportés dans les premières étapes du programme.

Ces populations seront progressivement améliorées par sélection massale classique, suivie d'un brassage génétique (stratégie de récurrence) à ceci près, que la fertilité sera fortement sélectionnée. L'hétérogénéité et la variabilité à l'intérieur de chaque population seront préservées au maximum. Ces populations, par ailleurs, seront constituées de sorte à établir un bon éloignement génétique entre elles. A chaque génération, il sera possible d'extraire de ces populations des lignées homozygotes (en particulier pour les translocations chromosomiques), fertiles et améliorées, dans l'objectif de tirer des variétés hybrides F1 de haute valeur par croisement entre lignées issues de populations différentes : on associera ainsi des génomes haploïdes sélectionnés pour leur valeur additive (création de lignées).

leur confrontation permettant de retrouver les effets d'hétérosis, ainsi que la stérilité potentielle liée à l'hétérozygotie structurale (croisements entre catégories caryotypiques pensées par ESSAD et DESSAUW).

Ce schéma est classique en amélioration des plantes. C'est certainement le plus sûr. Nous pourrions alors partir du matériel amélioré pour retomber sur le schéma de création variétale déjà proposé, à savoir la synthèse des triploïdes soit :

- par restitution du génome diploïde du parent femelle en croisement avec un parent mâle diploïde fertile,

- ou bien par le backcross d'un parent tétraploïde obtenu par doublement à la colchicine avec un parent diploïde (figure 3).

Quelques points sont à souligner :

- La recherche de l'homozygotie pour tous les diploïdes doit rester notre principal objectif. Elle nous permettra de réduire l'hétérozygotie structurale (restitution partielle ou complète de la fertilité) et d'enrichir, après sélection dans la descendance, nos populations en gènes favorables, à l'abri des effets rajoutés d'hétérosis et dominances, principalement.

- Sans l'appui de l'haplodiploïdisation *in vitro*, l'obtention de lignées homozygotes est pratiquement irréalisable (il faudrait huit générations d'autofécondation au minimum). Actuellement, par les méthodes classiques, il est préférable de ne viser qu'à l'homozygotie structurale au sein de chaque population, par une ou deux générations d'autofécondation, puis d'opérer une sélection phénotypique dans chaque descendance (incluant la sélection pour la fertilité).

- Nous ne pourrions nous passer, ni des cultivars diploïdes parce qu'ils nous apportent des gènes de parthénocarpie et de qualités du fruit, ni des espèces sauvages pour les gènes de résistances aux maladies et l'élargissement de la base génétique.

- Chaque population (dans la pratique, deux ou trois) devrait servir de testeur pour l'autre (principe de la sélection réciproque) : l'application de la méthode chez les bananiers reste à discuter : les tests de descendance doivent-ils être réalisés sur des familles de demi-frères, de plein-frères ; l'utilisation de testeurs pose le problème du choix du (ou des ?) testeurs. Un bon testeur est théoriquement défini comme homozygote, récessif et représentatif de la population réciproque. Le choix sera nécessairement un compromis entre les modèles théoriques et les disponibilités sur le terrain.

- On remarquera qu'il n'est nul part fait mention de *Musa balbisiana*. C'est délibéré. Nous pensons effectivement que ce programme est applicable à l'obtention de bananes à cuire de type 'Plantain' comme à celle de bananes «desert». Il est concevable de diriger la sélection au niveau des populations sources puis des lignées vers l'un ou l'autre type, selon les caractères qui seront retenus pour régir cette sélection.

- Cependant, il apparaît très risqué de ne tenir compte du génome B qu'en fin de sélection, après l'obtention d'une plante améliorée diploïde AA, celui-ci pouvant avoir un

effet dépressif. Il importe donc de tester l'interaction *acuminata* x *balbisiana* en cours de sélection.

- Un corollaire de ce programme est qu'il apporte de nouvelles connaissances sur la génétique des bananiers. Les informations qui en seront tirées (héritabilité ; effets d'additivité, de dominance, d'épistasie) seront valorisables au niveau international.

- La relation avec les autres programmes d'amélioration, notamment la voie 3x x 2x classique, n'est pas à négliger : les lignées améliorées sont des individus «élites» pour de tels programmes, présentant des combinaisons alléliques sélectionnées, à forts effets additifs.

Nous maîtrisons déjà beaucoup d'outils pour mener à bien ce programme (multiplication *in vitro*, culture d'embryons et à moindre titre, doublement à la colchicine *in vitro* sur méristèmes). Reste qu'il faut mettre au point maintenant l'androgénèse et ce, pour plusieurs raisons :

- d'abord parce qu'elle permet une réduction des coûts (main-d'oeuvre, superficie, etc.) et du temps pour obtenir des plantes homozygotes,

- ensuite, parce que pour certains clones de bananiers, elle est la seule possibilité offerte, les clones 2x parthénocarpiques étant souvent femelles stériles mais mâles plus ou moins fertiles (P. lilin, SF 247, etc.).

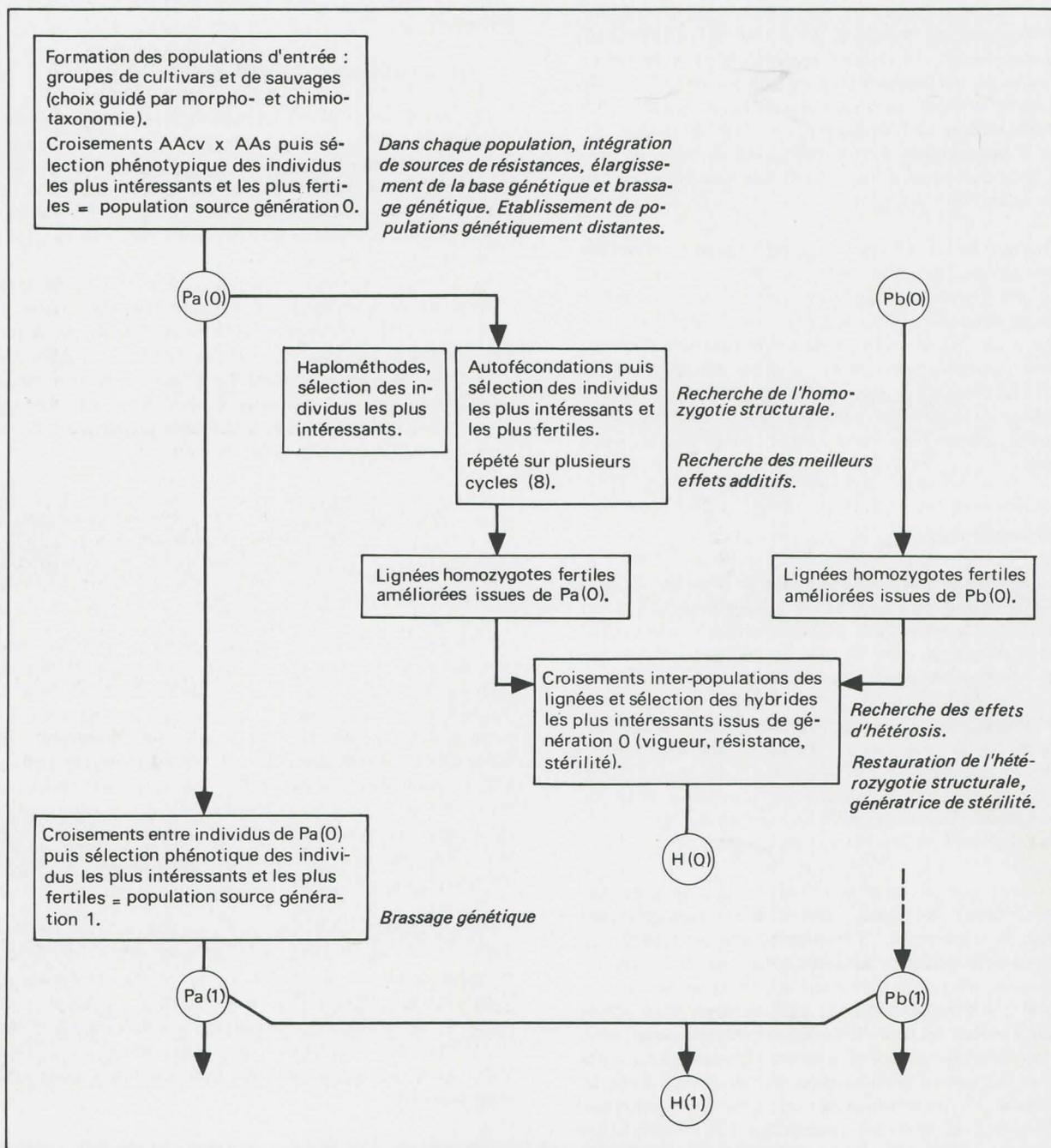


FIG. 2 * AMELIORATION DES CULTIVARS DIPLOIDES. OBTENTION DE LIGNEES HOMOZYGOTES FERTILES AMELIOREES ET CREATION D'HYBRIDES F1 STERILES. Pa = population a ; Pb = population b .

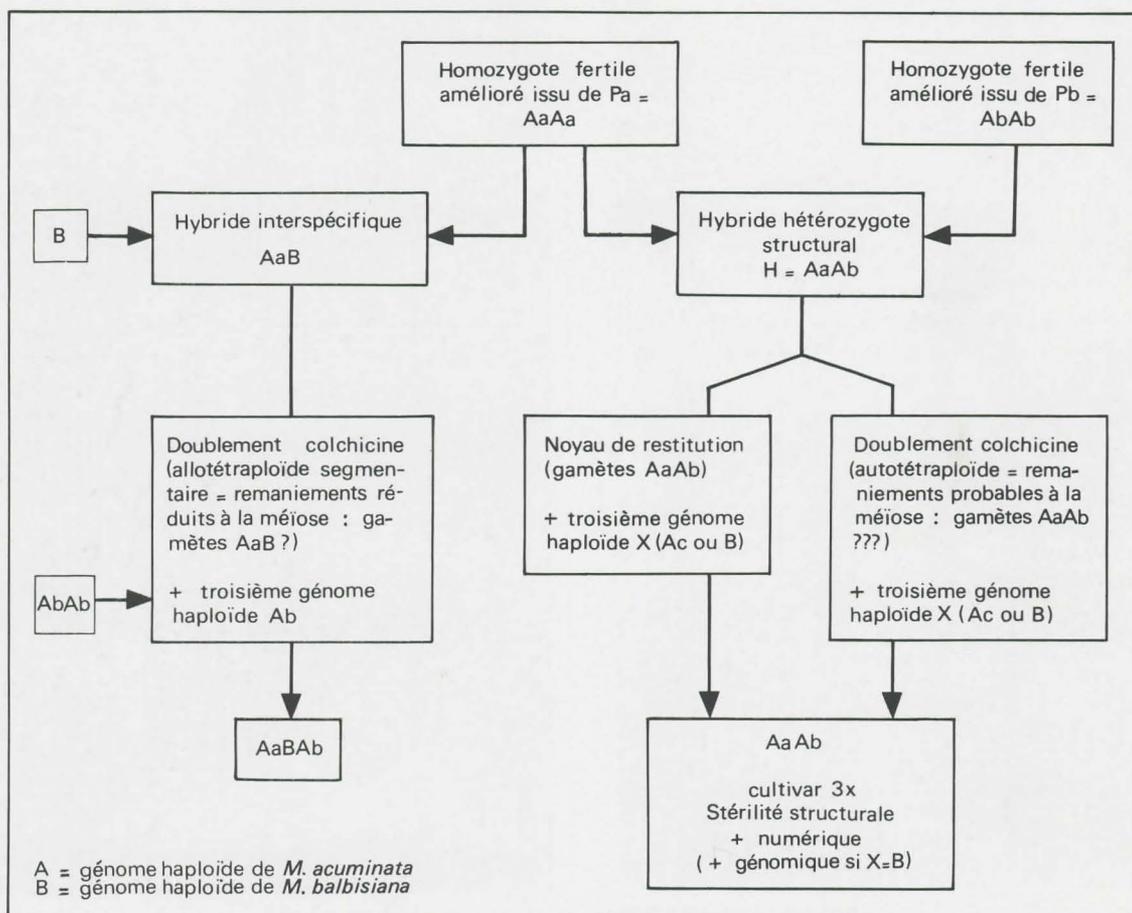


FIG. 3 * CREATION VARIETALE DE CULTIVARS TRIPLOIDES.

Actuellement nous essayons d'utiliser des dispositifs expérimentaux au champ qui permettront de tirer des informations génétiques pour mieux comprendre la parthénocarpe et aussi l'hétérosis chez le bananier, en évaluant l'effet d'inbreeding à chaque génération d'autofécondation (actuellement mené avec les AACv «n° 110» et AACv «Rose»). Parallèlement, nous étudions les descendance demi-frères (AACv x AAs) dont nous pensons retirer des informations sur les aptitudes à la combinaison des génotypes (part relative des effets de type additif et de type de dominance et épistasie).

STRATEGIE D'AMELIORATION PAR L'UTILISATION DES CULTURES *IN VITRO* ET BIOTECHNOLOGIES

L'objectif, dans ce cas, est de modifier un caractère déterminé, ponctuel (à déterminisme mono ou oligogénique), sur une variété par ailleurs performante.

Ainsi que nous l'avons vu (voir Annexe II) il n'y a pour l'instant que peu à attendre des variations somaclonales à partir de cal. Une possibilité intéressante néanmoins, réside dans l'acquisition du nanisme pour des plantes trop hautes (amélioration de la résistance au vent).

Il convient de signaler aussi le travail réalisé au Taiwan Banana Research Institute (Dr HWANG) et consistant à cribler au champ des bananiers Cavendish obtenus par

micropropagation massive *in vitro* dans des conditions de forte infestation par *Fusarium oxysporum* race 4. Les types tolérants qui correspondent à des variations somaclonales induisant souvent divers types de défauts (dont conformation), sont eux-mêmes multipliés massivement *in vitro* afin de sélectionner les variants manifestant une réduction des défauts, ... ainsi de suite. Il est pour l'instant difficile de se prononcer sur cette technique qui pourrait être prometteuse.

L'utilisation des cultures *in vitro* reste donc une voie très prometteuse et ne peut être négligée, en particulier pour l'utilisation de :

- pression de sélection précoce : les récents progrès en CIV laissent envisager une stratégie de sélection de mutants/variants en cultivant des suspensions de cellules isolées en présence de l'agent de pression de sélection.

- transformation et obtention de plants transgéniques : c'est un domaine trop important et prometteur pour qu'on ne s'engage pas dès maintenant dans cette voie. Certains travaux (26) ont montré qu'il était possible de transformer directement des embryons zygotiques. Il est bien probable qu'on obtienne bientôt des résultats aussi avec des embryons somatiques, organogénèse qu'on maîtrise maintenant à l'IRFA.

La voie royale et la plus sûre reste cependant aujourd'hui l'électroporation de protoplastes par du DNA transférant. Un certain nombre de plantes ont été transférées par



Haut gauche : AACv Rose.

Haut droite : NBB 11.

Bas gauche : hybride AACv Rose (♀) x NBB 11 (♂).

NBB 11 : faible rejetonnage, fruit à consommer cuit, assez long.

AACv Rose : fort rejetonnage, petit fruit, grand nombre de mains.

AACv Rose x NBB 11 : une combinaison des caractères des deux parents : fort rejetonnage, doigts de longueur équivalente à NBB 11, nombre de mains intermédiaire ; fruits à aspect de plantain mais à consommer crus (fruits sucrés).

cette voie, y compris des monocotylédones (28). Il ne reste que peu d'obstacles à l'obtention d'un résultat identique avec le bananier.

A titre d'exemple, il a été obtenu l'expression dans des plants de concombre, du gène transféré codant pour la protéine de la capsid virale de la mosaïque du concombre, leur conférant ainsi une résistance accrue à l'infection virale (22). Dans l'hypothèse de pouvoir disposer de ce DNA transférant, il est tentant alors de vouloir transférer des protoplastes pour conférer cette résistance au bananier. Cette maladie, comme on le sait, empêche le plein essor des vitroplants, particulièrement sensibles, comme matériel de plantation. Cette démarche paraît adaptée aussi pour le Bunchy Top, le virus ayant maintenant été isolé (24).

Enfin, des travaux sont déjà engagés par l'IRFA dans le domaine des RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Outre leur apport pour la taxonomie, ces techniques permettent le repérage et l'isolement de gènes.

Une grande partie du génome de bananier est déjà sous forme de sondes (C. LANAUD - CIRAD - com. pers.), clonées dans le vecteur Blue Script. A condition de pouvoir repérer un caractère favorable associé à un fragment d'ADN, il sera alors possible de l'intégrer dans les protoplastes.

Ces techniques ne sont probablement pas pour aujourd'hui, ni peut-être pour demain mais sûrement pour après demain.

VERS UNE STRATEGIE CONCERTEE

Au niveau de l'IRFA et de ses partenaires associés (STD2) on peut envisager le schéma suivant pour les années à venir :

Place de la Guadeloupe :

. **Collection** : de référence, analyse taxonomique + chimio-taxonomique + évaluation génétique (en descendance) + formation chercheurs en taxonomie (stages, cessions).

. Hybridations :

. connaissance génétique du complexe bananier : déterminisme des caractères par analyse des plans de croisement.

. amélioration des populations initiales + sélection généalogique (+ programme à long terme).

. **Culture *in vitro*** : mise au point d'une méthode d'androgénèse.



Culture d'anthere : plantes panachées et vertes issues d'un même cal (issu d'anthere).

. Etudes liées à la biologie de la reproduction + traitements colchicine.

Place du Cameroun.

. **Collection** : études de sensibilité variétale [IMTP - International Musa Testing Program (INIBAP)]
. à la maladie des raies noires
. charançons, nématodes (maladie de Panama ?).

. Amélioration/sélection : réalisation du programme à court terme, voie 3X x 2X + 4X réalisable avec Plantains et Poupous + sélection directe 4X résistant.

. Essai de mise en place de nouveaux clones.

. Criblage variétal - comportement en diverses écologies (IMTP)

Place de Montpellier/Orsay/K.U. Leuven.

. Montpellier :

. RFLP : taxonomie, corrélations marqueurs nucléaires/caractères agronomiques.

. Plaque tournante CIV pour échange de matériel végétal.

. Centre d'indexation.

. En CIV, meilleure compréhension et connaissance de l'embryogénèse somatique et culture de cellules isolées - essais de transformation avec sonde marquée embryons zygotiques ou somatiques.

. Université Paris XI - Orsay.

. Embryogénèse somatique sur feuille.

. Protoplaste + essais électroporation (en relation avec INRA Versailles).

. Etude et exploitation de la variation somaclonale.

. K.U. Leuven :

. gestion des échanges de germplasm au niveau international (centre de transit).

. Techniques de conservation.

. Embryogénèse somatique.

. Suspensions cellulaires.

Au niveau international avec nos partenaires et à travers l'INIBAP.

. Echange de matériel végétal (+ amélioré homozygote ?).

. Mise en place de tests multi-locaux (Afrique IITA ; Colombie ; Brésil EMBRAPA ; Costa Rica CATIE, etc.) = IMTP.

+ échange information sur résistance, etc.

+ séminaires.

. Prospections.

. Conseil/expert en : CIV, électrophorèse, etc.

ANNEXE I

LA STERILITE CHEZ LES BANANIERS

La stérilité est certainement d'un point de vue génétique la caractéristique la plus marquante des bananiers cultivés. Elle peut se définir, d'une façon très large comme une barrière interdisant la reproduction d'une plante par voie sexuée.

Le bananier est certainement aussi une plante pour laquelle l'étude de l'acquisition des différentes modalités de facteurs de stérilité est la plus complète qui soit dans le monde végétal.

Il s'agit alors de montrer comment, à partir de deux espèces sauvages *M. acuminata* et *M. balbisiana*, les ancêtres sauvages, fertiles, à graines de la quasi-totalité des bananiers cultivés actuels, sont issus des plantes, recherchées et sélectionnées par l'homme, qui présentent une stérilité mâle et/ou femelle plus ou moins forte, et produisant dans tous les cas des fruits sans graines.

L'analyse des facteurs de stérilité a requis la mise au point d'outils relevant pour la plupart des études de cytologie : les travaux de l'école anglaise repris plus tard par l'IRFA (DESSAUW) sur la méiose ont apporté de nombreuses informations pouvant expliquer les accidents observés au cours de la sporo- et gamétogénèse. Le développement et l'extension des observations de sacs embryonnaires, grandement facilité par l'utilisation du microscope à contraste interférentiel de NORMANSKY, ont permis d'expliquer en relation avec les études sur le pollen, les accidents dans la biologie florale qui interviennent au moment de la fécondation ou après.

Par croisement, il a été aisé de confirmer (ou non) les observations préalables pour la production de graines et aussi d'alerter l'expérimentateur sur les clones plus récemment introduits pour mener plus en avant les investigations.

Ainsi que le souligne DESSAUW (11 a), les phénomènes à l'origine de la stérilité chez le bananier, sont d'ordre génomique, chromosomique (numérique ou structural), et génique. Ils entraînent alors des erreurs méiotiques organo-génétiques et physiologiques.

STERILITE D'ORIGINE GENIQUE

Par définition, ce type de stérilité est gouvernée par des gènes. Elle est commune et maintenant bien connue avec les clones AAcv. Elle se retrouve *a fortiori* chez les plantes de ploïdie supérieure (AAA, AAB, ABB et tétraploïdes) qui en dérivent. Certains auteurs (30, 35) s'accordent à penser aussi que, diminuant avec le génome B chez les clones triploïdes, la stérilité serait un caractère *acuminata*.

Du côté femelle, DODDS (13), avait noté, que chez *P. liliin* (AAcv), par exemple, la formation d'archespories multiples trouvées dans 40 p.100 des ovules, entraînait l'avortement des sacs embryonnaires. DESSAUW (11 c) a montré plus récemment qu'avec Kirun (AAcv, type

Figue Sucrée), les sacs sont présents mais anormaux (sacs contenant moins de 8 noyaux) et qu'il existait un asynchronisme entre la réceptivité des stigmates et celle des ovules, ces derniers accusant un retard parfois de plusieurs jours sur les premiers. Des décalages entre l'ouverture de la bractée recouvrante (stade normal de pollinisation) et la réceptivité des stigmates a aussi été notée chez Bie Yeng (AAcv - observations personnelles). Parfois aussi, et c'est le cas avec le groupe des French Plantains (AAB), 20-25 p. 100 des ovules possèdent des sacs embryonnaires normaux le jour de la pollinisation et aucune graine n'est obtenue (en croisement avec un AAs, par exemple). Il faut alors rechercher d'autres causes liées peut-être à une mauvaise pénétration du tube pollinique dans l'ovaire, entre autres.

Du côté mâle, il est courant de constater qu'à l'issue d'un croisement (AAcv ♀ x AA♂), les graines se trouvent préférentiellement dans la partie supérieure de l'ovaire (du côté pistillaire) et très rarement dans la partie inférieure alors que la répartition des sacs embryonnaires normaux est uniforme dans tout l'ovaire. Une croissance insuffisante des tubes polliniques dans les styles et ovaires plus longs chez les clones AAcv que chez les AAs, a pu être montrée, lesquels n'atteignent pas les ovules de la base des ovaires. DESSAUW (11 c) suggère aussi que les sacs embryonnaires peuvent avoir commencé à dégénérer avant que les tubes polliniques ne les aient atteints (18-20 h pour atteindre la partie apicale de l'ovaire et beaucoup plus pour la base).

Dans un autre domaine, la gamétogénèse mâle est sujette à de nombreuses variations : alors, qu'en général, le pollen atteint sa maturité et viabilité complète le jour de l'anthèse (jour d'ouverture de la bractée), DODDS et SIMMONDS (15) ont montré que les microspores tétraploïdes du diploïde SH51, issues d'une double restitution nucléaire, évoluaient beaucoup plus vite en grain de pollen que la normale et avaient déjà dégénéré au moins vingt jours avant l'ouverture de la bractée qui les portait.

Enfin, DESSAUW (11 c) note qu'il existe une très bonne corrélation entre la fertilité pollinique et le taux de formation de tétrades sphériques, celles-ci reflétant bien le bon déroulement de la méiose. Outre les anomalies méiotiques liées à la présence de translocations/inversions chez les AAcv (stérilité liée à l'hétérozygotie structurale - voir plus loin), il suggère aussi que les tétrades à plus de quatre cellules qu'il a observées, soient dues à la présence de micro-noyaux, conséquence de chromosomes trainards à la méiose (probablement liée à des effets géniques).

Après la fécondation, DODDS (18), dans ses travaux sur la fertilisation des bananiers, a montré clairement que, chez IR53 (*M. acuminata*, AAs), un nombre restreint d'ovules contenant des sacs embryonnaires normaux à la fécondation, donnaient des graines. Ajoutons qu'à la maturité, les fruits des espèces sauvages sont toujours remplis de graines. Il est vraisemblable alors qu'une compétition tant spatiale que trophique n'ait lieu au sein de

l'ovaire, n'autorisant l'évolution en graine que d'une partie des ovules fécondés. Avec les clones parthénocarpiques, bon nombre d'ovules fécondés ont été observés sans jamais pour cela qu'aucune graine n'ait été obtenue.

La croissance du sac embryonnaire s'opère chez le bananier par autolyse du nucelle, sans paroi entre les deux. Les zygotes pourraient être particulièrement sensibles aux tissus maternels et les auxines synthétisées par le fruit en croissance (chez AACv) provoqueraient aussi des avortements (35). Nos propres résultats portant sur un plus grand nombre de clones ont montré qu'il y a une plus forte proportion de graines avortées chez les cultivars en comparaison des sauvages (graines vides à téguments clairs).

Outre leur faible quantité, les graines de bananiers germent très mal : les graines sont souvent anormales, parfois systématiquement sans albumen (clone Gwan-hour AACv, par exemple), sans embryon ou avec des embryons très mal conformés (42). Une autre raison réside aussi dans l'existence d'une désynchronisation très fréquente entre le développement des graines et des fruits, ces derniers étant mûrs (et donc récoltés) bien avant que les graines n'aient atteint leur maturité complète (10).

STERILITE D'ORIGINE GENOMIQUE

L'origine bispécifique (*M. acuminata* et *M. balbisiana*) est maintenant acquise (35) pour la grande majorité des cultivars. L'observation des méiôses de diploïdes synthétiques AB issus du croisement des deux espèces sauvages a montré que les deux stocks de chromosomes ne s'appariaient que partiellement, le nombre de bivalents formés (chromosomes appariés) variant de 6 à 10 selon les individus mais jamais 11 (14). La non homéologie des génomes, pour au moins une paire de chromosomes, conduit à la formation de gamètes anormaux. Nous avons noté aussi que, en l'absence de tout autre cause de stérilité (parents sauvages) la fécondité des hybrides BA (*M. balbisiana* x *M. acuminata microcarpa*) est très variable (de 6 à 300 graines par régime hybride selon les individus) mais toujours réduite.

Les anomalies méiotiques analysées au niveau diploïde se retrouvent, *a fortiori*, au niveau triploïde au moins pour les groupes originaires des deux espèces (groupe AAB, ABB), compliquées alors, par la formation possible de trivalents, entre chromosomes homéologues (voir plus loin : stérilité chromosomique numérique).

STERILITE D'ORIGINE CHROMOSOMIQUE STRUCTURALE

De nombreux travaux (équipe anglaise notamment) ont montré que les bananiers diploïdes parthénocarpiques (AACv) présentaient des méiôses anormales liées à la présence d'une ou plusieurs translocations/inversions de fragments de chromosomes dans le génome. Plus récemment DESSAUW (11 b) note que parmi les clones qu'il a étudiés, les AACv sont aussi tous hétérozygotes structuraux pour au moins une translocation entre paires de chromosomes non homologues.

Les translocations se détectent au stade métaphase I de la méiose, pour une plante diploïde par la formation de trivalents (trois chromosomes appariés), quadrivalents (quatre chromosomes appariés) pour une translocation, voire des appariements d'ordre supérieur pour deux translocations ou plus. Les inversions se reconnaissent à la formation après crossing-over, de chromosomes avec deux centromères ou pas du tout (36). Ces anomalies méiotiques entraînent alors, la formation de gamètes chromosomiquement déséquilibrés qui le plus souvent avortent ; il y aura d'autant plus de gamètes anormaux que le nombre de translocations/inversions est élevé dans la plante étudiée.

SHEPHERD (31) dans ces travaux sur la structuration des populations naturelles de l'espèce *acuminata* a observé que les hybrides issus de sous-espèces sauvages (homozygotes de structures parfaitement fertiles) présentaient d'une à quatre translocations selon les parents utilisés. Par l'analyse systématique de ces croisements, il reconnaît sept groupes de «catégories caryotypiques» (18) recoupant en partie la taxonomie traditionnelle et la distribution géographique de l'espèce.

Ajoutons que bien que l'hétérozygotie structurale entraîne une baisse de la fertilité, elle ne peut expliquer à elle seule la stérilité des clones AACv. En effet, un hybride diploïde sauvage issu du croisement de *M. a. malaccensis* x *M. a. burmannica*, hétérozygote pour au moins trois translocations, s'est révélé fertile tant du côté mâle que femelle (SHEPHERD, com. pers.).

On comprend aisément que cette hétérozygotie structurale trouvée chez les diploïdes sauvages synthétiques comme chez les clones AACv pourrait être renforcée au niveau triploïde (groupe AAA) par l'adjonction d'un génome haploïde n'appartenant pas nécessairement à la même catégorie caryotypique que les deux autres génomes (AA) auxquels il se trouverait confronté. La stérilité des clones AAA s'en trouverait renforcée alors de ce seul fait.

STERILITE D'ORIGINE CHROMOSOMIQUE NUMERIQUE

Le niveau de ploïdie des bananiers parthénocarpiques varie de $2n$ à $4n$. Cependant, le groupe des triploïdes, le plus largement représenté, est de loin, le plus important d'un point de vue économique. La triploïdie est considérée chez le bananier comme le niveau de ploïdie optimum en terme de vigueur, productivité, la taille des fruits dans ce groupe étant la plus importante.

A l'instar d'autres espèces végétales, la triploïdie gère vraisemblablement une grande partie de la stérilité chez le bananier : par la formation de trivalents entre chromosomes homéologues mais aussi par une répartition aléatoire de monovalents restants de chaque côté de la plaque équatoriale de la première métaphase de la méiose. Toutes ces causes entraînent alors la formation de gamètes déséquilibrés qui le plus souvent dégèrent.

L'acquisition de la triploïdie vient donc renforcer la stérilité des clones $2n$ déjà acquise en grande partie, comme nous l'avons vu, au niveau diploïde pour d'autres raisons.

CONCLUSIONS

La synthèse de travaux déjà anciens et d'autres plus récents, réalisés en partie par l'IRFA en relation avec l'INRA (France) et l'EMBRAPA (Brésil), a permis de mieux comprendre et expliquer les causes de la stérilité chez les bananiers cultivés.

Il est clair maintenant, que cette compréhension n'a été rendue possible que par une étude approfondie, au niveau diploïde, d'un large éventail de plantes en collection, sauvages ou cultivées. La triploïdie, à cet égard, ne doit être considérée que comme un cas de figure de stérilité particulier. Elle complique aussi les interprétations. En effet, une même observation peut cacher diverses causes bien distinctes et mener à des conclusions

erronées : l'observation d'un trivalent, par exemple, chez un clone triploïde, peut s'expliquer aussi bien par un appariement entre trois chromosomes homéologues que par la présence d'une translocation.

Il est entendu qu'il faudra tenir compte désormais de ces informations à tous les niveaux pour gérer la stérilité dans le cadre de l'amélioration des bananiers d'autant plus pour un programme se proposant de repartir du niveau diploïde pour synthétiser des clones triploïdes. Il faut d'ailleurs corriger ici ce postulat erroné affirmant la nécessité d'une stérilité absolue pour une banane de consommation : à l'exception de très rares groupes (Cavendish par exemple) nous constatons que la très grande majorité des clones triploïdes normalement aspermes en plantation, produisent des graines lorsqu'ils sont pollinisés par une plante sauvage.

ANNEXE II

LA CULTURE *IN VITRO* CHEZ LES BANANIERES

La culture *in vitro* fait partie intégrante du programme d'amélioration génétique, avec deux objectifs principaux :

- la micropropagation, les échanges et la conservation de matériel sauvage ou cultivé sain,
- l'appui à l'amélioration génétique ciblé principalement sur l'élargissement de la variabilité (culture de tissus, doublement chromosomique), sur le contournement des barrières de stérilité (culture d'embryons zygotiques) mais aussi la mise au point de tests de sélection précoce.

Ainsi divers volets ont dû être abordés dans ce domaine très vaste de la culture *in vitro*.

CALLOGENESE, ORGANOGENESE

Le bananier est une plante dont on est en mesure aujourd'hui de produire un cal à partir de n'importe quel type d'organe végétatif (embryon zygotique, racine, tige, feuille) ou floral (tissus inflorescentiels, fleurs). Ils sont prélevés sur des plantes au champ ou déjà cultivées *in vitro* sur des clones diploïdes ou triploïdes.

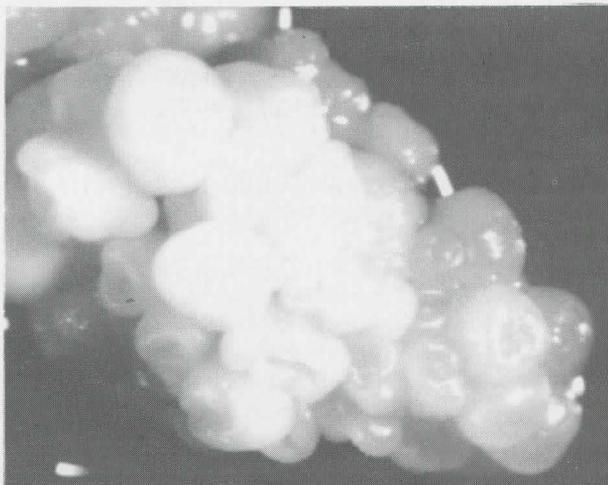
Selon la nature de l'explant, la composition des milieux et les conditions de culture, les caractéristiques morphologiques et histologiques des cals sont très variables, certaines formes dérivant les unes des autres. Tous les cals ne sont pas organogènes, d'autres ne donnent que des racines et un certain nombre des pousses végétatives, résultats en bonne partie obtenus et étudiés par l'équipe de l'IRFA ou avec son concours.

Ces cals, à bon potentiel de régénération de plantes, se développent en général à partir de tissus hautement réactifs comme la base de pousses feuillées issues d'inflorescences (4) ou de la germination de graines (16), de demi-bananiers coupés longitudinalement (38), de tissus superficiels de tige (45) et aussi de tissus rajeunis comme ceux d'ovaires (16). Tous ces cals maintenus en culture, ont en commun d'être très hétérogènes, organisés sous la forme d'un amas d'unités élémentaires plus ou moins compactes (appelées selon les cas nodosités, granules,

etc.) dérivant les unes des autres par bourgeonnement et prolifération. Plus récemment, des plantes ont été obtenues à partir d'un cal issu de feuille totalement amorphe, à croissance très rapide (9), rappelant les cals C.H.P. (cal hautement proliférant) du palmier à huile (1).

Les modalités de callogénèse sont souvent incertaines. Elles varient de l'embryogénèse somatique atypique à la formation de néotiges et de néoformations de tiges vraies. ESCALANT (16, 17) a pu cependant mettre en évidence, à partir de cals issus d'embryons zygotiques - matériel extrêmement rajeuni et très réactif - la possibilité d'une embryogénèse somatique typique chez le bananier. L'auteur souligne que les cals embryogénétiques ne se développent que si la gelrite est utilisée comme gélifiant à la place de l'agar.

De façon générale, les cals de bon potentiel caulogène s'obtiennent et sont entretenus préférentiellement en utilisant des composés à très forte action auxinique (2,4,5 T, Picloram, Dicamba) ou avec un mélange équilibré de cytokinine et auxine (BAP, AIA respectivement) mais aussi parfois sans aucun régulateur de croissance dans le milieu.



Embryons somatiques de *M. acuminata*.

Ces cals ont fait l'objet d'études détaillées tant d'un point de vue morphologique que histologique ou histobiochimique. Il a été montré par exemple, que les tissus embryonnaires tant zygotiques que somatiques avaient une teneur élevée en protéines dans lesquelles certains acides aminés dont l'arginine, se trouvaient en très forte quantité. Cet acide aminé pourrait alors servir de marqueur moléculaire pour différencier les cals embryogénétiques de ceux qui ne le sont pas.

L'analyse des plantes au champ, issues de la culture de cal, n'a montré que peu de variations, souvent restreintes à des mutations de hauteur qui, par ailleurs, sont fréquentes dans la nature avec une exception cependant : les plantes issues de cals friables d'origine foliaire du clone Valéry ($2n = 33, AAA$) se sont avérées très différentes du type standard. Les plantes de tailles réduites, n'ont pratiquement pas de racines et les feuilles, anormales, sont gaufrées aux bords relevés. Dans ce lot, quelques-unes qui se sont révélées diploïdes ($2n = 22/23$) se développent plus normalement (5).

L'expérience et la connaissance acquises sur le comportement des tissus de bananiers, plante réputée difficile en culture *in vitro*, nous permettent d'envisager avec optimisme les études menées actuellement au niveau cellulaire. Les cals organogènes de nature embryogène ou non se révèlent être un matériel végétal bien adapté pour l'isolement et la culture de cellules isolées (CIRAD, Montpellier) ou de protoplastes (Faculté Paris XI, Orsay) (2, 8) surtout en comparaison des tissus tirés directement de la plante mère, moins réactifs et probablement trop différenciés.

La culture d'embryon zygotique est employée quotidiennement maintenant dans le cadre de notre programme d'hybridations en Guadeloupe. Elle permet le sauvetage d'embryons et donc d'hybrides qui, en conditions naturelles n'auraient pas germé, la graine étant trop immature à la récolte ou très mal conformée (sans albumen par exemple (42)). On peut maintenant analyser les descendance de plantes impossibles à faire auparavant et élargir aussi l'éventail des croisements et donc, des géniteurs potentiels.

OBTENTION DE CLONES TETRAPLOIDES PAR LE TRAITEMENT A LA COLCHICINE *IN VITRO*

La triploïdie est sans doute, pour différentes raisons, le niveau d'équilibre chromosomique optimum pour le bananier. Elle résulte, en conditions naturelles, de la confrontation d'un gamète diploïde (issu d'un noyau de restitution d'un clone diploïde) avec un gamète haploïde (issu aussi d'un clone diploïde). Cependant, le phénomène, sous contrôle génique probablement, est aléatoire et reste très mal connu.

D'une manière plus contrôlée, les plantes triploïdes ont aussi été obtenues par croisement $4X \times 2X$ par VAKILI (44). Pour cela, il faut pouvoir disposer de clones tétraploïdes naturels ou bien, pour élargir la base des croisements, les synthétiser à partir de clones diploïdes par des traitements à la colchicine.

Les premiers clones tétraploïdes ont été obtenus par le traitement à la colchicine de graines en germination de plantes diploïdes. Des effets généraux, liés à

l'acquisition de la polyploïdie chez le bananier ont pu ainsi être étudiés (44, 11 c). L'analyse des plantes, cependant, est rendue difficile par l'effet conjugué du traitement, l'acquisition de la tétraploïdie, mais aussi l'effet du croisement. L'étude, d'autre part, n'a pu être faite que sur des espèces sauvages séminifères, ce qui en limite l'intérêt. En culture *in vitro*, il a été alors possible d'appliquer les traitements non plus sur des graines mais sur des méristèmes végétatifs en phase active de prolifération (16, 6). A ce jour un certain nombre de cultivars diploïdes (5 clones), les plus intéressants, fixés par multiplication végétative, ont pu être ainsi doublés. La technique de doublement chromosomique est relativement aisée. Nous envisageons, à terme, de disposer d'un large éventail de clones tétraploïdes issus directement de cultivars diploïdes de nos collections. Les plantes doublées, déjà plantées, n'ont pas encore fleuri ; il sera toutefois possible d'étudier les effets du traitement à l'abri des ségrégations géniques importantes, inévitables avec ce type de matériel (voir Annexe III).

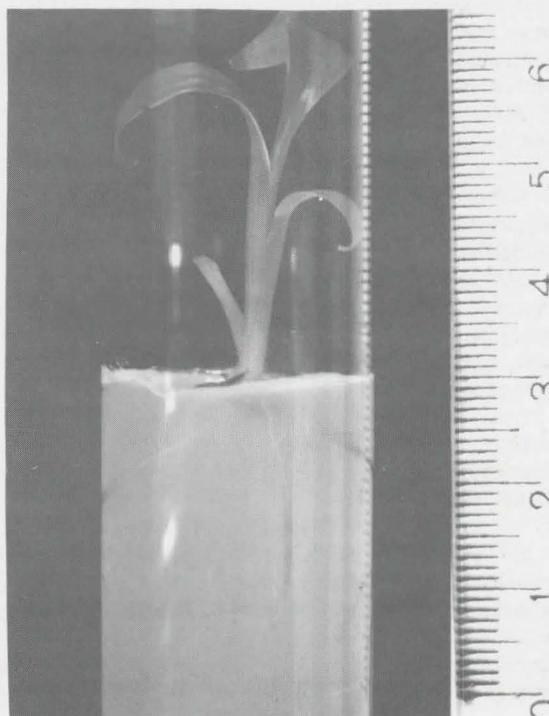
Les plantes seront par ailleurs utilisables directement en croisement avec des diploïdes pour obtenir des plantes triploïdes.

MICROPROPAGATION ET ECHANGE DE MATERIEL SAIN

Il faut rappeler, pour mémoire, que tous les échanges internationaux de bananiers se font désormais sous forme de plantes *in vitro*. C'est une garantie absolue contre la propagation des maladies (fongiques et bactériennes) à l'exception des virus comme le Bunchy Top, par exemple, pour lequel des kits de détections sont actuellement mis au point par l'IRFA (24).

Les techniques de culture de méristèmes végétatifs en prolifération sont maintenant bien établies ; la mise au point de protocoles simplifiés devrait déboucher à terme sur le passage *in vitro* du matériel directement

Culture d'embryon zygotique : embryon après 45 jours de culture.



sur les lieux de prospections et collectes, et ce, pour éviter la perte d'accessions encore trop nombreuses, compte tenu de la valeur du matériel recherché. La possibilité d'obtenir maintenant des plantes à partir de tissus inflorescentiels *in vitro* (16, 3) autorise aussi l'utilisation des inflorescences mâles pour des échanges de matériel végétal ; nous avons noté, en effet, que les variations clonales observées n'étaient pas supérieures à celles observées par multiplication de rejets. Les inflorescences ont l'avantage d'être très saines, légères et peu encombrantes, de se conserver très longtemps et enfin d'être très faciles à stériliser (par flambage) pour la culture *in vitro*.

Enfin, une technique simple de conservation *in vitro* au froid, a été mise au point permettant de conserver les cultures dans le même milieu pendant 12 à 18 mois au lieu de les repiquer toutes les 6 à 8 semaines (7). Nous utilisons cette même technique dans notre programme d'hybridation pour ralentir la croissance des embryons germés *in vitro*. On peut alors regrouper et planifier la plantation des hybrides - la récolte des graines se faisant tout au long de l'année - et dégager des plans de croisements, un maximum d'informations génétiques possibles, ce qui n'était pas envisageable auparavant.

ANNEXE III

L'HETEROZYGOTIE GENIQUE CHEZ LES BANANIERES DIPLOIDES *ACUMINATA*

L'hétérozygotie chez les bananiers a trop longtemps été étudiée en terme d'hétérozygotie structurale. Si cette forme particulière d'hétérozygotie joue un rôle majeur dans l'anomalie méiotique, elle ne constitue néanmoins qu'une catégorie particulière de l'hétérozygotie au sens large.

A l'opposé, les informations quant à l'hétérozygotie génique, c'est-à-dire l'existence de formes différentes pour chacun des deux exemplaires d'une même unité génétique du génome diploïde, restaient très lacunaires. Non que ce sujet n'ait pas suscité l'intérêt des chercheurs : il n'est que de lire DODDS, mettant l'accent sur la nécessité pour l'amélioration d'utiliser des parents diploïdes homozygotes et de comprendre la génétique de la transmission des caractères, pour s'en rendre compte (12).

Le manque d'informations disponibles dans ce domaine peut être attribué à un certain nombre de facteurs qui ont freiné de telles études ; l'obstacle majeur semble cependant avoir été la stérilité des variétés comestibles : elle a conduit à une focalisation des chercheurs sur ce problème, comme en témoigne la somme considérable des travaux menés en cytogénétique par CHEESMAN, DODDS, SIMMONDS et SHEPHERD entre 1940 et 1970.

De plus, l'analyse génétique des ségrégations de caractères était rendue difficile par la forte stérilité femelle des cultivars alors étudiés (des 5 variétés dont disposait DODDS en 1943, seulement 6 plantules ont pu être obtenues par pollinisation, dont 3 diploïdes ...). Si les bananiers séminifères ne présentaient pas cet inconvénient, leurs caractères phénotypiques étaient jugés par trop désavantageux pour être utilisables en sélection (12), et n'ont donc suscité que peu d'études. Pour conclure, on pourra ajouter à cette liste de facteurs défavorables, la superficie des terrains nécessaires à une analyse de descendance.

En quoi la situation a-t-elle changé au cours des dernières années ? Nous considérons actuellement que les diploïdes sauvages et parthénocarpiques sont à la base de l'amélioration des bananiers (21) et celle-ci ne saura être efficace sans la compréhension de l'organisation génétique des structures diploïdes.

L'acquisition d'informations dans ce domaine a été autorisée tout d'abord par l'accroissement du matériel végétal disponible en collection, tant en variétés sauvages que cultivées. L'expérimentateur a progressivement eu accès à une plus grande diversité phénotypique, dont des cultivars ayant un plus haut niveau de fertilité, rendant possibles jusqu'aux autofécondations. De plus, de nouvelles techniques ont permis de franchir certaines barrières physiologiques de reproduction (sauvetage d'embryons *in vitro*) et d'accéder à une information plus large sur la constitution génétique (marqueurs moléculaires) des bananiers. On peut ainsi aujourd'hui avoir une meilleure idée de l'hétérozygotie chez les bananiers.

L'HETEROZYGOTIE CHEZ LES TYPES SAUVAGES

Les bananiers sauvages sont souvent considérés comme des espèces allogames. On peut cependant supposer une homozygotie assez élevée, et ce pour plusieurs raisons :

- la diversité au sein de l'espèce *acuminata* est en partie structurée par un isolement géographique plus ou moins complet, confirmé par les mesures de l'infertilité des sous-espèces (34) et l'analyse cytogénétique des mutations chromosomiques qui leur sont propres (31).

- l'allogamie n'est pas une règle générale. On se souviendra de l'existence de types présentant des fleurs hermaphrodites, comme c'est le cas chez les sous-espèces *banksii*, *errans* (35) et vraisemblablement chez d'autres sous-espèces. Nous avons pu observer à Neufchâteau un type de la sous-espèce *siamea* (Khae Phrae) hermaphrodite. D'autre part, SIMMONDS a justement noté que le mode de croissance des bananiers autorise l'autofécondation naturelle entre plantes d'une même touffe.

- un autre bon indicateur de l'autogamie est l'effet d'inbreeding : plus faible est celui-ci, plus forte est l'autogamie naturelle chez la plante. SIMMONDS, sur une génération d'autofécondation, ne remarquait aucune perte de vigueur marquée (35). Nous poursuivons actuellement des recherches dans cette voie.

- enfin, l'observation de quelques descendances en autofécondation montre des progénitures uniformes, alors que les intercroisements conduisent à des types intermédiaires (12). Ces observations suggèrent une homozygotie relativement élevée chez *Musa acuminata*.

L'utilisation des marqueurs moléculaires (isozymes, RFLP) est d'un développement récent chez les bananiers. Les premiers résultats obtenus par électrophorèse d'isozymes, bien qu'encore partiels, montrent cependant l'intérêt qu'il y a à recourir à cette méthode. Une diversité génétique, supérieure à celle des variétés cultivées, est relevée au sein de l'espèce *acuminata*, et JARRET (25) suggère l'existence d'allèles spécifiques aux sous-espèces. Nous avons de plus pu observer un net déficit en structures hétérozygotes chez cette espèce par rapport à sa diversité (23). Notons que les individus présentant des génotypes hétérozygotes par analyse électrophorétique sont vraisemblablement issus d'hybridations non contrôlées (en collections). De fait, morphologiquement, ils ne correspondent en rien aux populations naturelles observées en prospection (il convient ici de rappeler la nécessité de travailler sur des individus représentatifs de celles-ci).

En conclusion, il apparaît donc que, malgré une tendance du mode de reproduction vers l'allogamie, les bananiers sauvages manifestent une forte homozygotie.

L'HETEROZYGOTIE CHEZ LES TYPES CULTIVES

Les informations sur l'hétérozygotie chez les cultivars diploïdes ont longtemps reposé sur l'analyse de descendances de Pisang Lilin, variété la plus étudiée de par sa fertilité mâle et ses caractéristiques agronomiques favorables (12). Trois caractères ont été principalement analysés : la parthénocarpié, la persistance des bractées et la stérilité (35) et plus récemment, la résistance à la maladie de Panama (43). Ces analyses ont montré la

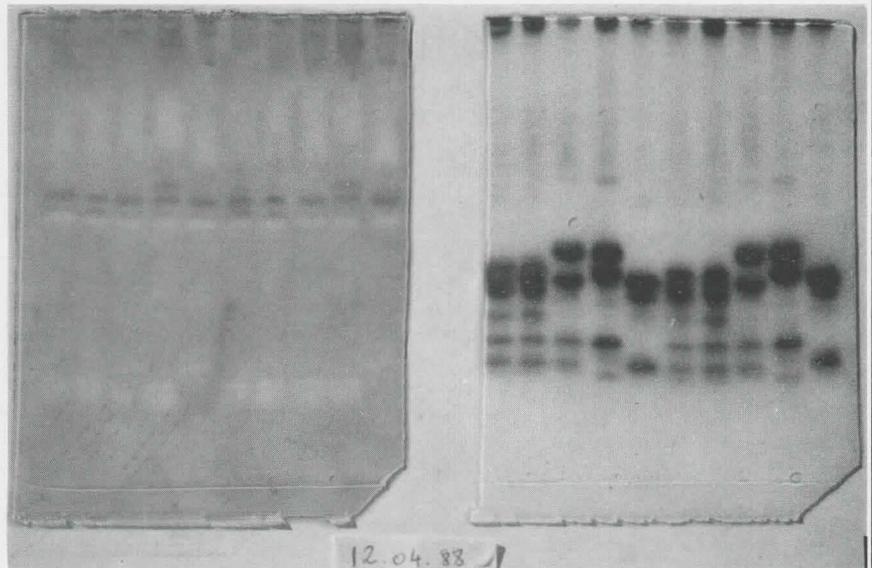
nature hétérozygote du clone, du moins pour les gènes considérés. L'analyse de nouveaux cultivars diploïdes fertiles est venue ensuite affirmer la nature fondamentalement hétérozygote des clones comestibles (33).

L'IRFA dispose actuellement d'une collection de près de cinquante cultivars diploïdes *acuminata* et nos premières observations de descendances suggèrent effectivement une forte hétérozygotie pour certains clones (AAcv Rose, Galéo, NBB11), mais d'autres clones pourraient présenter une homozygotie plus marquée (Guyod, à confirmer). L'étude par électrophorèse a apporté un élément de réflexion supplémentaire. Si la diversité est moindre chez les clones cultivés par rapport aux variétés sauvages, l'hétérozygotie y est cependant élevée (23). Cette analyse reste encore incomplète, mais vient confirmer les observations d'hybridations, en reconnaissant parmi les clones étudiés, différents niveaux d'hétérozygotie.

L'importance de travailler sur des plantes fortement homozygotes a été soulignée. Au niveau des cultivars diploïdes si les autofécondations (pas toujours possibles) et les haplométhodes (encore à l'étude) pourront assurer à plus ou moins long terme la mise à disposition de tels matériels, une obtention rapide de résultats pourra être obtenue par l'utilisation des variétés les plus homozygotes. La reconnaissance de celles-ci passe par le développement de techniques de dépistage précoce (étude du polymorphisme enzymatique, des RFLP) indissociables de l'analyse des descendances d'hybridations, qui pourront ainsi être limitées aux seules variétés suffisamment homozygotes, réduisant par là même les superficies de plantations.

ISOZYMES ET CLASSIFICATION DES BANANIERES

Les bananiers cultivés (diploïdes, triploïdes et, plus rarement, tétraploïdes) sont supposés dériver, pour la plupart, des deux espèces séminifères sauvages diploïdes *Musa acuminata* (génomme A) et *Musa balbisiana* (génomme B). Par leurs caractéristiques morphologiques, les cultivars sont désignés AA, AAA, AAAA, pour ceux ne présentant que des caractères *acuminata*, et AB, AAB, ABB, ABBB ... pour ceux présentant des caractères plus ou moins hybrides. Le polymorphisme enzymatique, portant sur 5 systèmes et 8 locus, a été étudié chez 113 individus de la collection IRFA/CIRAD de Neufchâteau, Guadeloupe (FW1), et a révélé l'existence d'une diversité enzymatique entre les deux espèces portant à la fois sur les fréquences et la nature des allèles. L'existence des mêmes allèles chez les variétés cultivées conforte l'hypothèse de leur origine bispécifique et permet leur classification précoce à des stades juvéniles. En termes d'amélioration des bananiers, un faible polymorphisme au sein des cultivars *acuminata* étudiés est mis en évidence, rendant nécessaire l'élargissement de la base génétique par l'utilisation des variétés sauvages et/ou la recherche de cultivars dans les zones peu prospectées du complexe d'espèce.



Visualisation de différents isomères de deux enzymes après séparation sur gel de polyacrylamide (Diaphorase, à gauche ; Estérase, à droite).

ANNEXE IV

LA COLLECTION IRFA DE NEUFCHATEAU

Les collections de matériel végétal vivant sont une nécessité pour tout programme d'amélioration. Outre qu'elles permettent d'élargir le champ des connaissances fondamentales de la plante, de préciser la diversité à l'intérieur d'un complexe donné, elles offrent l'opportunité de disposer de la matière nécessaire à la résolution des problèmes inhérents aux variétés génétiquement appauvries par des modes culturels, les isolant de leurs formes spontanées.

Au niveau de l'IRFA, des efforts ont été développés (et continuent de l'être) pour rassembler sur la station de Neufchâteau en Guadeloupe, le maximum de matériel représentant la plus grande diversité de variétés possible. Cette collection, contenant au départ une trentaine de génotypes, présente actuellement près de quatre cents variétés établies ; elle a pu s'enrichir grâce à une coopération active entre l'IRFA et divers organismes étrangers : mission d'évaluation et de collection en Indonésie, Malaisie, Thaïlande, conjointement avec l'EMBRAPA-Brésil, en 1985 (39) ; prospection des plantains au Cameroun, en relation avec l'IRA-Cameroun ; prospection en Papouasie Nouvelle-Guinée, en collaboration avec l'IBPGR et l'INIBAP (1988, 40) ; échanges de matériel (EMBRAPA-Brésil, IITA-Nigéria, IRAZ-Burundi, Rwanda, Comores, QDPI-Australie ...).

Le matériel collecté *in vivo* l'est sous forme de rejets pour les clones cultivés et sous forme de rejets ou de graines pour les types séminifères. Afin d'éviter la propagation de maladies entre zones géographiques différentes, tout le matériel végétal collecté doit être examiné dans les centres d'indexation retenus par l'INIBAP, dont l'IRFA/CIRAD-Montpellier, pour être ensuite diffusé via le Centre de Transit de K.U. Leuven.

Un accent particulier a été mis sur l'introduction de variétés diploïdes d'origines géographiques variées ; la collection compte aujourd'hui trente-trois spécimens *M. acuminata* et cinquante-deux cultivars diploïdes de la même espèce. On doit souligner l'importance des variétés diploïdes, tant pour la connaissance des populations, de la génétique et de la cytogénétique des bananiers, que pour le rôle primordial qu'elles ont dans l'amélioration génétique.

L'observation systématique des caractères morphologiques a permis de mesurer l'étendue de la variabilité au sein du complexe bananier et d'établir une fiche descriptive comportant cent vingt-trois caractères ; l'étroite collaboration avec le service de biométrie de l'IRFA s'est concrétisée par la création d'un logiciel original d'aide à la détermination des variétés (système MUSOID), utili-

sable par tout gestionnaire de collection de bananier (27). Cette collection est par ailleurs en grande partie dupliquée au Cameroun (station IRA de Nyombé), élargissant ainsi le champ des observations possibles, notamment par des études de sensibilité variétale à la cercosporiose noire principalement (19), mais aussi charançons, nématodes, *Trachysphaera musae*, cordana.

Parallèlement, l'existence d'une collection unique regroupant l'essentiel de la variabilité des bananiers a fourni l'occasion d'étudier la structuration de cette variabilité par les méthodes morphotaxonomiques (42), chimiotaxonomiques (23) et cytogénétiques (11 a, b, c). Un des problèmes du complexe d'espèce des bananiers est la compréhension des liens qui unissent les différents niveaux de ploïdie. Les méthodes chimiotaxonomiques ont ainsi permis de confirmer l'origine bispécifique des variétés cultivées et la classification courante, basées sur des descriptions morphologiques. Un aspect impliquant plus directement l'IRFA est l'origine *acuminata* des cultivars de type plantains. La présence de marqueurs anthocyaniques associés à des allèles récessifs chez les plantains et chez les seuls cultivars diploïdes de Papouasie Nouvelle-Guinée vient en appui à l'hypothèse antérieurement émise d'une origine commune à ces deux groupes variétaux par le biais des observations morphologiques (41) ; cependant, aucune preuve génétique certaine n'a pu encore être apportée et seul le développement de marqueurs sélectivement neutres (isozymes, RFLP) pourrait confirmer sans équivoque cette présomption.

La centralisation de toutes les données (morphotaxonomie, chimiotaxonomie, avec notamment le développement d'un programme d'analyse du polymorphisme de longueur de fragments de restriction de l'ADN nucléaire-RFLP ; résistances ; évaluations agronomiques et génétiques) à Montpellier devrait déboucher sur la mise en place d'une banque de données comportant quatre fichiers principaux ; taxonomie, indexation (identification selon un code international et synonymies - l'aspect «identification variétale», particulièrement au travers des marqueurs anthocyaniques mériterait à ce titre une recherche plus approfondie), évaluation et maladies/ravageurs.

Cette collection s'est révélée d'une grande valeur dans un objectif de sélection des bananiers, offrant le matériel adapté à une sélection massale de cultivars à potentiel agronomique intéressant (20), et surtout en apportant la diversité nécessaire à l'élaboration d'un programme d'amélioration décidé à élargir la base génétique des bananiers cultivés.

BIBLIOGRAPHIE

1. AHEE (J.), ARTHUIS (P.), CAS (G.), DUVAL (Y.), GUENIN (G.), HANOVER (P.), LIEVOUX (D.), LIORET (C.), MALAURIE (B.), PANNETIER (P.), RAILLOT (D.), VARECHON (D.) et ZUCKERMANN (L.). 1981.
La multiplication végétative du palmier à huile par embryogénèse somatique.
Oléagineux, 36, 113-118.
2. BAKRY (F.). 1984.
Choix du matériel à utiliser pour l'isolement de protoplastes de bananier *Musa* sp. (Musacées).
Fruits, 39 (7-8), 449-452.
3. BAKRY (F.), LAVARDE (F.), ROSSIGNOL (L.) et DEMARLY (Y.). 1985.
Développement de pousses végétatives à partir de la culture *in vitro* d'explants inflorescentiels de bananiers (*Musa* sp. - Musacées).
Fruits, 40 (7-8), 459-465.
4. BAKRY (F.) et ROSSIGNOL (L.). 1985.
Analyse des capacités de callogénèse et d'organogénèse obtenues à partir de différents tissus de bananier (*Musa* sp. - Musacées).
Fruits, 40 (11), 697-707.
5. BAKRY (F.). 1988.
Rapport de mission de coopération scientifique auprès de l'EMBRAPA, Brésil, 13 octobre-12 novembre 1988, 14 p. non publié.
6. BAKRY (F.). 1988.
Amélioration génétique des bananiers cultivés pour les consommations locales et pour l'exportation.
Rapport périodique n° 10, juillet-décembre 1988, 14 p. non publié.
7. BANERJEE (N.) and DE LANGHE (E.). 1985.
A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (Banana and plantain).
Plant Cell Report, 4, 351-354.
8. CHAPUT (M.H.). 1987.
Isolement et culture de protoplastes chez divers génotypes de bananiers (*Musa* sp.).
Mémoire de DEA, Université Paris XI, Orsay, 12 p.
9. DA (S.), CONCEICAO (A.), MATSUMOTO (K.), BAKRY (F.) and BERND (R.B.).
Plant regeneration for a long term callus culture of *Musa* sp. leaf tissues.
à paraître.
10. DARJO (P.) et BAKRY (F.).
Conservation et germination des graines de bananiers.
à paraître.
- 11 a. DESSAUW (D.). 1988.
Etude des facteurs de la stérilité du bananier (*Musa* spp.) et des relations cytotoxonomiques entre *M. acuminata* et *M. balbisiana* COLLA.
Fruits, 43 (10), 539-558.
- 11 b. *Fruits*, 43 (11), 615-638.
- 11 c. *Fruits*, 43 (12), 685-700.
12. DODDS (K.S.). 1943.
The genetic system of banana varieties in relation to banana breeding.
Emp. J. exp. Agric., 11, 89-98.
13. DODDS (K.S.). 1945.
Genetical and cytological studies of *Musa*.
VI.- The development of female cells of certain edible diploids.
J. genet., 46 (2 and 3), 161-170.
14. DODDS (K.S.) and PITTENDRICH (C.S.). 1946.
Genetical and cytological studies of *Musa*.
VII.- Certain aspects of polyploidy.
J. Genet., 47 (2), 162-177.
15. DODDS (K.S.) and SIMMONDS (N.W.). 1946.
Genetical and cytological studies of *Musa*.
VIII.- The formation of polyploid spores.
J. Genet., 47 (3), 223-241.
16. ESCALANT (J.V.). 1987.
Les bananiers diploïdes en culture *in vitro* (*Musa acuminata* et *Musa balbisiana*). Etude du comportement et recherche de variabilité.
Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 174 p.
17. ESCALANT (J.V.) et TEISSON (C.). 1987.
Comportement *in vitro* de l'embryon isolé du bananier (*Musa* sp.).
Fruits, 42 (6), 333-342.
18. ESSAD (S.). 1984.
Note sur les méthodes d'amélioration applicables au bananier.
Document interne IRFA, 6 p., non publié.
19. FOURE (E.). 1989.
Contribution à la lutte génétique contre les Cercosporioses des bananiers et des plantains au Cameroun.
Etudes de sensibilité variétale. Tests précoces d'inoculation sur plants issus de vitro-culture.
Séminaire INIBAP «Cercospora leaf spot diseases of bananas and plantains, San José, Costa Rica, 23-31 mars 1989, 19 p.
20. GANRY (J.). 1988.
Compte rendu de mission en Guadeloupe.
Recherches sur bananiers, 25 avril au 3 mai 1988.
Rapport interne IRFA, 20 p., non publié.
21. GANRY (J.). 1988.
Amélioration génétique des bananiers cultivés pour les consommations locales et pour l'exportation.
Rapport final CCE, 21 p., non publié.
22. HARRISON (B.O.), MAYO (M.A.) and BAULCOMBE (D.C.). 1987.
Virus resistance in transgenic plants that express cucumber mosaic virus satellite RNA.
Nature, 328, 799-802.
23. HORRY (J.P.). 1989.
Chimiotaxonomie et organisation génétique dans le genre *Musa*.
Thèse de doctorat. Université Paris XI, Orsay, 105 p.
24. ISKRA (M.L.), GARNIER (M.) et BOVE (J.M.). 1989.
Purification of banana bunchy top virus (BBTV).
Fruits, 44 (2), 63-66.
25. JARRET (R.L.). 1987.
Biochemical/genetic markers and their uses in the genus *Musa*.
in *G.J. Persley and E. De Langhe (eds.) Banana and plantain breeding strategies, ACIAR Proceedings*, 21, 182-185.
26. NEUHAUS (G.), SPANGENBERG (G.), MITTELSEN SCHEID (O.) and SCHWEIGER (H.G.). 1987.
Theor. Appl. Genet., 75, 30-36.
27. PERRIER (X.) et TEZENAS DU MONTCEL (H.). 1988.
MUSAID : a computerized determination system.
Séminaire INIBAP «Identification of genetic diversity in the genus Musa». Los Baños, Philippines, 4-10 Sept. 1988, 14 p.
28. RHODES (C.A.), PIERCE (D.A.), METTLER (I.J.), MASCARENHAS, DETMER (J.J.). 1988.
Science, 240, 204-207.
29. ROWE (P.). 1987.
Banana breeding in Honduras.
in : *G.J. Persley and E. De Langhe (Eds.). Banana and Plantain breeding strategies. ACIAR Proceedings*, 21, 74-77.
30. SHEPHERD (K.). 1960.
Seed fertility of edible bananas.
J. Hort. Sci., 35 (1), 6-20.
31. SHEPHERD (K.). 1987.
Translocations in *Musa acuminata*.
3 p., non publié.
32. SHEPHERD (K.). 1987.
Banana breeding - Past and present.
In : *Symposium on tropical and subtropical fruit breeding. Acta Horticulturae*, 196, 37-43.
33. SHEPHERD (K.). 1988.
Observation on *Musa* Taxonomy.
Séminaire INIBAP «Identification of genetic diversity in the genus Musa», 4-10 Sept. 1988, Los Baños, Philippines, 8 p.
34. SIMMONDS (N.W.). 1952.
Experiments on the pollination of seeded diploid bananas.
J. Genet., 512, 32-40.
35. SIMMONDS (N.W.). 1962.
The evolution of the bananas.
Longmans Ed., Londres, 512 p.
36. SRB (A.M.) and OWEN (R.D.). 1952.
Ch. 10. Chromosomal aberrations and positions effects.
in : *General Genetics, W.H. Freeman and Co., San Francisco, California*.
37. SWENNEN (R.) and VUYLESTEKE (D.). 1989.
Aspects of plantain breeding at IITA.
Séminaire INIBAP «Cercospora leaf spot diseases of bananas and plantains, San José, Costa Rica, 23-31 mars 1989.

38. TEISSON (C.).
39. TEZENAS DU MONTCEL (H.). 1985.
Evaluation des collections d'Asie du Sud-Est (Thaïlande, Indonésie, Malaisie) visitées au cours d'une mission du 30 mars au 24 avril 1985.
Rapport interne IRFA, 11 p., non publié.
40. TEZENAS DU MONTCEL (H.). 1988.
Rapport de mission en Papouasie Nouvelle-Guinée du 22 février au 24 mars 1988.
Rapport interne INIBAP/IRFA, 23 p., non publié.
41. TEZENAS DU MONTCEL (H.). 1988.
Musa acuminata subspecies *banksii*, status and diversity.
Séminaire INIBAP «Identification of genetic diversity in the genus *Musa*», Los Baños, Philippines, 4-10 Sept. 1988, 10 p.
42. TEZENAS DU MONTCEL (H.), DESSAUW (D.) et BAKRY (F.). 1987.
Programme de génétique pour l'amélioration des bananiers.
In : *Rapport annuel 1987 de l'IRFA Guadeloupe*, 171 p.
43. VAKILI (N.G.). 1965.
Fusarium wilt resistance in seedlings and mature plants of *Musa* species.
Phytopathology, 55, 135-140.
44. VAKILI (N.G.). 1967.
The experimental formation of polyploidy and its effects in the genus *Musa*.
Amer. J. Bot., 54 (1), 34-36.
45. VAN EGROO (G.). 1986.
Embryogénèse somatique chez le bananier cultivé cv Bluggoe : obtention et description histologique.
Mémoire de DEA, Université Paris XI, Orsay, 23 p.