

Variations chez les bananiers et les plantains multipliés *in vitro* : analyse des données de la littérature

F.X. CÔTE*, J.A. SANDOVAL*, Ph. MARIE** et E. AUBOIRON***

Introduction

Le phénomène de variabilité génétique générée par la culture de tissus a été observé chez de nombreuses espèces. Il est généralement désigné sous le terme de variation somaclonale (LARKIN et SCOWCROFT, 1981 ; MEINS, 1983 ; SWARTZ, 1991 ; KARP, 1991). De nombreux travaux ont montré que dans le genre *Musa*, également, une partie du matériel produit après multiplication *in vitro* n'était pas conforme au matériel source dont il était issu. Les modifications observées concernent principalement la taille du plant, la morphologie de l'inflorescence et la présence d'anomalies foliaires diverses. La nature génétique de ces modifications phénotypiques n'a pas été déterminée de façon certaine. Pour cette raison, les différents phénotypes de bananiers et plantains observés à l'issue de la culture de tissus seront désignés, dans cet article, sous le terme de "variants" ou "hors-types", plutôt que sous le terme de "variants somaclonaux".

Bien que les variants de bananiers et plantains puissent être exploités, dans de rares cas, comme une source de variabilité pour les programmes d'amélioration génétique, ils constituent surtout un handicap pour le développement des techniques de propagation de masse et de conservation des ressources génétiques.

Ce document est une synthèse des informations sur les variations chez les bananiers et plantains multipliés *in vitro*. Il inclut des données non publiées du CIRAD¹.

Types de variations (tableau 1)

Variations affectant la hauteur

Le caractère variant le plus fréquemment observé dans cette catégorie est le nanisme. Ce type est caractéristique des bananiers du sous-groupe des Cavendish chez lequel il représente près des 3/4 des cas de variation (STOVER, 1987 ; ISRAELI *et al.*, 1991). D'autres particularités morphologiques sont souvent associées au phénotype nain, comme par exemple la déformation des mains, la persistance des bractées (STOVER,

1987 ; ISRAELI *et al.*, 1991 ; MARIE, 1992) et la déformation des pétioles. Les variants nains du cultivar Grande naine sont phénotypiquement très proches du cultivar Petite naine. MARIE (1992), ACHARD et AUBOIRON (1992) citent également la présence de variants "grêles", de petite taille, chez le cultivar Grande naine.

D'autres types de variations affectent la taille du plant chez les cultivars du sous-groupe des Cavendish. STOVER (1988) a ainsi répertorié 6 classes de hauteur chez des variants de Grande naine, depuis le type extra nain, jusqu'au type géant. Le variant géant du type "Valery" représente jusqu'à 10 % des plants hors-types chez ce cultivar (STOVER, 1987 ; MARIE, 1992 ; ACHARD et AUBOIRON, 1992).

Peu de variants nains ont été observés chez les cultivars de structure génomique AAB ou ABB multipliés *in vitro*. Un cas a cependant été rapporté par RODRIGUEZ *et al.* (1991) chez le cultivar Burro Camsa (ABB), et un autre par SANDOVAL *et al.* (1991) chez le cultivar Falso Cuerno (AAB).

Variations affectant l'inflorescence

Deux grands types de variations affectent l'inflorescence des bananiers et plantains multipliés *in vitro*. Dans le sous-groupe des Cavendish, c'est la dimension et la forme des fruits qui sont l'objet de variations. Chez les plantains, c'est la morphologie de l'ensemble du régime qui peut être modifiée.

Dans ce dernier groupe, les variations correspondent le plus souvent à une "réversion" vers un type d'inflorescence de degré inférieur de dégénérescence dans la classification des plantains (DE LANGHE, 1961 ; TÉZENAS DU MONTCEL, 1983). Des variants du type French ont ainsi été observés chez des cultivars Faux Corne tels que Agbagba (VUYLSTEKE *et al.*, 1988 et 1991), Maricongo (RAMCHARAN *et al.*, 1987 ; KRİKORIAN *et al.*, 1993), ou Falso Cuerno (SANDOVAL *et al.*, 1991). Cette "réversion" constitue l'essentiel des cas de variations chez ces cultivars. VUYLSTEKE *et al.* (1991) citent par ailleurs une variation du type Faux Corne chez le cultivar Ubok Iba de type Corne. Chez les cultivars de type French, étudiés par les mêmes auteurs, les variations affectent également l'inflorescence, mais celle-ci reste cependant du type French.

* CIRAD-FLHOR, Laboratoire Biotrop, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

** CIRAD-FLHOR, Martinique, BP 163, 97202 Fort-de-France Cedex, France.

*** CRBP Cameroun, BP 832, Douala, Cameroun.

1. CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (France).

Le cultivar Bise Egome 2 (AAB) présente un comportement particulier vis-à-vis des variations. Des hors-types de type French ont été observés chez ce plantain, mais également des plants présentant une dégénérescence vers les types Faux Corne et Corne (VUYLSTEKE *et al.*, 1991).

Un type de variation affectant l'inflorescence devenue dichotomique a été observé chez le cultivar diploïdes AA Figue sucrée (CIRAD-FLHOR² Guadeloupe et Martinique, résultats non publiés). Des variants de Grande naine présentant des inflorescences multiples ont également été observés (MARRERO, CITA³ communication personnelle).

Variations affectant les limbes

Plusieurs anomalies affectent les limbes. La plus fréquente, chez les bananiers du sous-groupe des Cavendish Grande naine, correspond à une déformation localisée des tissus du limbe ressemblant à des symptômes dus à des virus (REUVENI et ISRAELI, 1990 ; ISRAELI *et al.*, 1991). Ces auteurs ont décrit cette anomalie sous le terme de "mosaic-like", elle correspond à 10 % environ des cas de variations. D'autres caractéristiques morphologiques, plus ou moins marquées selon les plants, sont présentes chez ce type de variant : épaisseur du limbe importante, index foliaire L/l élevé, feuilles tombantes (ISRAELI *et al.*, 1991 ; MARIE, 1992). La variation "mosaic-like" peut être associée à d'autres types de variation comme le nanisme (ISRAELI *et al.*, 1991 ; MARIE, 1992). Des variants à limbes déformés ou panachés, et des modifications de coloration du pseudotrunc ou des marges pétiolaires, ont également été observés chez plusieurs cultivars de bananiers et de plantains.

Transmissibilité des variations

Certaines des variations décrites sont transmissibles après multiplication végétative. Dans le sous-groupe des Cavendish, la variation naine est transmise par multiplication conventionnelle, y compris après plusieurs cycles (STOVER, 1987 ; ISRAELI *et al.*, 1988 ; MARIE, 1992). Chez plusieurs bananiers plantains, après 3 cycles de multiplication conventionnelle, VUYLSTEKE *et al.* (1991) ont observé le maintien des caractères de variation affectant l'inflorescence.

Des cas de retour au phénotype d'origine ont été observés après quelques cycles de multiplication au champ chez des variants du type "mosaic-like" (ISRAELI *et al.*, 1991). Ce retour est fréquent dans le cas de variations affectant la forme et le caractère panaché des limbes et la coloration du pseudotrunc (ISRAELI *et al.*, 1991).

La transmissibilité du caractère variant a également été étudiée après micropropagation *in vitro* de rejets variants et observation au champ des plants produits. Chez le cultivar Grande naine, les descendances *in vitro* de rejets du type nain, géant et "mosaic-like", ont conservé le caractère variant après 5 cycles de multiplication *in vitro* (résultats non publiés CIRAD-FLHOR Montpellier et Martinique ; PEREZ, CORBANA⁴ communication personnelle). Les variants du type French du cultivar Agbagba multipliés *in vitro* ont également produit des plants avec une inflorescence de type French (VUYLSTEKE *et al.*, 1991).

Variations et "mutations" naturelles

Plusieurs des types de variants décrits précédemment sont morphologiquement proche du phénotype de cultivars existants.

Les variants nains du cultivar Grande naine sont, comme il a déjà été souligné, très semblables aux bananiers du cultivar Petite naine. De la même façon, les différentes classes de hauteur distinguées par STOVER (1988), parmi les variants de Grande naine, sont morphologiquement proches d'un des cultivars du sous-groupe des Cavendish. Il est possible que ceux-ci dérivent par "mutation" d'un même type originel (STOVER and SIMMONDS, 1987). On peut donc émettre l'hypothèse que les variations et les "mutations" naturelles ont pour origine des mécanismes biologiques comparables.

ISRAELI *et al.* (1991) ont observé la présence exceptionnelle de bananiers "mosaic-like" de type nain, à limbes panachés et à pseudotrunc avec anomalie de coloration, parmi des plants du sous-groupe des Cavendish, multipliés par les techniques agronomiques classiques. Ces 3 derniers phénotypes ont également été observés après multiplication conventionnelle chez d'autres cultivars de *Musa*.

Comme pour les bananiers du sous-groupe des Cavendish, VUYLSTEKE *et al.* (1991) ont montré que les variants générés par la culture *in vitro* de plantains présentent, pour la plupart, des caractéristiques de cultivars existants. Ces auteurs ont observé des cas de "réversion" touchant l'inflorescence, après multiplication conventionnelle. Chez le cultivar Agbagba, la "réversion" naturelle vers le type French se produit à un taux de 0,7 % alors que les variants du même type générés *in vitro* représentent 2,7 % de la population de vitroplants. KRIKORIAN *et al.* (1993) rapportent que la "réversion" vers le type French, observée chez le cultivar Faux Corne Maricongo (AAB) après multiplication *in vitro*, apparaît également en multiplication conventionnelle au taux de 0,2 %. On remarquera que les taux de "réversion" observés en multiplication conventionnelle chez les plantains sont très supérieurs aux taux de mutations naturelles habituellement cités pour les végétaux. Cette observation sera discutée plus loin.

Variations pour l'amélioration génétique et en micropropagation de masse

Les variants de bananiers et plantains étant souvent phénotypiquement proches de cultivars naturels, leur contribution à la variabilité existante est limitée. Quelques rares variants d'intérêt agronomique ont pourtant été sélectionnés :

- HWANG and KO (1987, 1990) ont sélectionné des variants du cultivar Giant Cavendish possédant, dans leurs conditions de culture, une résistance au *Fusarium oxysporum* subsp. *cubense* ;
- DANIELLS (1991) a sélectionné un type de variant présentant un rendement supérieur à celui du cultivar d'origine appartenant au sous-groupe des Cavendish ;

2. CIRAD-FLHOR : Département des productions fruitières et horticoles du CIRAD (France).

3. CITA : Centro de Investigación y tecnología agrarias (Islas Canarias, España).

4. CORBANA : Corporación Bananera Nacional (Costa Rica).

– RODRIGUEZ *et al.* (1991) ont sélectionné un variant nain du cultivar Burro Cernia (ABB), présentant un intérêt agronomique ; SANDOVAL *et al.* (1991) ont réalisé le même type de sélection à partir du cultivar Falso Cuerno (AAB).

Hormis les rares cas précédemment cités, les variations constituent un handicap majeur pour la micropropagation de masse des bananiers ou pour la conservation de matériel génétique conforme. Chez les cultivars du sous-groupe des Cavendish, les plus multipliés *in vitro*, la plupart des variants ont des caractéristiques agronomiques incompatibles avec les exigences de la production. Outre l'impossibilité de commercialiser les fruits, l'arrachage des plants non conformes aboutit à une désorganisation de la parcelle. Pour ces raisons, de nombreux utilisateurs de vitroplants de bananiers considèrent que le recours à un tel matériel n'est plus avantageux au-delà de 3 à 5 % de variants au champ.

Origines des variations

Les origines possibles des variations chez les bananiers ont été discutées dans des articles précédents (SMITH, 1988 ; KRİKORIAN, 1989 ; VUYLSTEKE *et al.*, 1991), aucun résultat expérimental n'en a cependant permis une détermination précise. Les expérimentations sont difficiles car, d'une part, l'identification des variants n'est certaine qu'au champ et, d'autre part, parce que les bananiers étudiés en culture *in vitro* sont généralement stériles et ne permettent donc pas d'effectuer des études de descendance.

Différents types de variations ont été répertoriées à partir des espèces multipliées *in vitro*. Elles sont habituellement classées en 3 grands types (SWARTZ, 1991) :

- les variations liées à l'hétérogénéité du matériel mis en culture,
- celles liées aux modifications du génome de la plante multipliée *in vitro*,
- celles liées aux modifications épigénétiques induites par la culture de tissus, mais non transmissibles au cours de la méiose.

L'analyse des informations recueillies dans la littérature pourrait permettre de classer les variations des bananiers et des plantains dans l'une ou l'autre de ces catégories.

Hétérogénéité du matériel source

Bien que les taux variables de variations, obtenus par différents laboratoires, puissent être le fait des techniques de micropropagation utilisées spécifiquement par chacun d'eux, l'hétérogénéité du matériel source n'expliquerait que partiellement la disparité des résultats de la littérature : des pourcentages variables de hors-types ont en effet été observés au sein d'un même laboratoire, sur un même cultivar (tableau 1).

REUVENI and ISRAELI (1990) ont suggéré qu'une hétérogénéité du matériel source pourrait être responsable des différences de pourcentage de variants observées entre clones issus de différents rejets du cultivar Williams (un clone issu de rejet, parfois également désigné sous le terme de famille ou lignée, correspond à l'ensemble de la descendance *in vitro* de ce rejet). Ces auteurs ont en effet mis en évidence le fait que certains rejets de ce cultivar se distinguaient par la rareté ou

l'absence de variants dans leur descendance. Cela les a conduit à émettre l'hypothèse de l'existence de "familles stables".

Pour KRİKORIAN *et al.* (1993), une hétérogénéité du matériel source serait également à l'origine des différences de pourcentage de variants, observées entre lignées du cultivar Marincongo. Cette hétérogénéité serait, dans ce cas, présente au niveau du pied-mère lui-même. Chez ce cultivar en effet, le pourcentage de variants n'est pas le même entre des lignées de vitroplants issus de rejets prélevés sur un même pied-mère. L'hétérogénéité du matériel source serait de nature chimérique et les variants obtenus correspondraient alors à une déchimérisation du Marincongo.

L'hypothèse selon laquelle certaines variations seraient liées à une hétérogénéité du matériel source est séduisante. Le taux de "réversions" naturelles touchant l'inflorescence, exceptionnellement élevé, observé chez plusieurs cultivars de plantain, s'accorderait bien avec cette hypothèse. De façon générale, cette hypothèse s'accorderait également avec les taux élevés de variants observés chez les bananiers, cela d'autant plus que la micropropagation par bourgeonnement est considérée comme la technique de multiplication générant le moins de variants.

Certains cultivars sont effectivement suspectés d'être des chimères. C'est le cas du cultivar AAA Figue rose (red) dont CHAMPION (1967) rapporte que 10 % des rejets, produisant habituellement des fruits pigmentés par des anthocyanes, sont à l'origine de bananiers à fruits verts du type Figue rose blanche (Green red).

L'étude de la conformité des plants issus de la régénération de lignées de vitroplants ayant une origine unicellulaire (obtenues à partir de suspensions cellulaires embryogènes, de protoplastes, etc.) devrait permettre d'obtenir des informations complémentaires sur le caractère potentiellement chimérique du matériel source de certains cultivars de bananiers et plantains, et sur les liens possibles entre ce caractère et les "variations" observées à l'issue de la multiplication *in vitro*.

Modification du génome

Des modifications génomiques ont pu être associées à la variation "mosaic-like" précédemment décrite. REUVENI (1990) a suggéré que de tels variants pourraient présenter des cellules aneuploïdes. Les travaux récents de SANDOVAL *et al.* (1993) ont montré que chez le cultivar Grande naine, ces variants présentaient en moyenne 35 % de cellules aneuploïdes. Ces auteurs n'ont pas observé de différence de nombres de chromosomes entre plants conformes et nains.

La nature génétique de la variation naine chez le cultivar Unapope est soulignée par les travaux de FORD-LLOYD *et al.* (1993), qui ont caractérisé ce type de variation par la technique des marqueurs moléculaires RAPD.

Modification épigénétique

Compte tenu du mode de multiplication par voie végétative des bananiers habituellement étudiés en culture *in vitro*, la distinction entre les variations d'origine génétique et épigénétique est difficile à déterminer. Il est cependant généralement admis que les variations, qui sont transmissibles après

plusieurs cycles de multiplication végétative, ont une faible probabilité d'être d'origine épigénétique et sont plus probablement d'origine génétique.

Pourcentage de variants et fréquence d'apparition des variations

Des lots de vitroplants, présentant des pourcentages extrêmes de variants s'échelonnant de 0 à 100 %, ont été observés dans les études consacrées aux variations chez les bananiers du sous-groupe des Cavendish et Plantains (tableau 1). Ces résultats seront discutés après avoir défini la signification des paramètres "pourcentage de variants" et "fréquence de variation".

Définitions

Le pourcentage de variants est la proportion de plants hors types dans une population de vitroplants. Ce pourcentage est calculé à partir de la somme de tous les plants variants, qu'il s'agisse de plants hors types résultant de la variation d'un plant conforme, ou que ceux-ci soient issus de la multiplication de plants déjà eux-mêmes variants.

La fréquence de variation est la probabilité d'apparition d'un plant hors type au cours de la multiplication *in vitro*.

La détermination de la fréquence d'apparition des variations en culture de tissus est complexe (MEINS, 1983). Elle n'a pas été réalisée dans les études consacrées au genre *Musa*. Ce paramètre pourrait cependant être expérimentalement déduit de l'évolution du pourcentage de variants en fonction du nombre de subcultures, à condition de connaître les taux respectifs de multiplication des plants conformes et variants (CÔTE *et al.*, 1993a).

REUVENI and ISRAELI (1990) ont déterminé chez le cultivar Williams, l'évolution de ce pourcentage au cours des premiers cycles de culture. Le taux d'augmentation des variants à chaque cycle de culture, équivalant au taux d'apparition des hors types, est de l'ordre de 6.10^{-3} par plant nouvellement produit. Si, dans cette expérimentation, le taux de multiplication des plants variants nains et des plants conformes était comparable, comme c'est le cas chez le cultivar Grande naine (CIRAD-FLHOR Montpellier, résultats non publiés), ce nombre pourrait être adopté comme une approximation de la valeur de la fréquence d'apparition de la variation naine.

Les données concernant la fréquence de mutations naturelles chez les bananiers sont rares, STOVER and SIMMONDS (1987) citent cependant des taux de l'ordre de 2.10^{-6} chez le cultivar Petite naine. La fréquence d'apparition des variations précédemment estimée serait donc de l'ordre de 3.10^3 fois supérieure à ce chiffre de mutation naturelle. Il est probable que chaque type de variation possède une fréquence d'apparition spécifique.

Précocité d'apparition des variations et pourcentage de variants

Le moment où intervient la variation, dans l'ensemble du schéma de multiplication *in vitro*, pourrait avoir des répercussions sur le pourcentage de variants obtenus en fin de culture.

Si les hypothèses suivantes sont admises :

– un vitroplant ayant subi une variation la transmet à sa descendance *in vitro*,

– une variation peut intervenir à n'importe quel moment au cours des cycles de subcultures *in vitro*,

on parvient aux conclusions suivantes :

– un pourcentage élevé de variants pourra être observé à l'issue d'une multiplication *in vitro* si une variation intervient après un nombre réduit de cycles de subcultures,

– à l'inverse, un faible pourcentage de variants observé dans la population finale de vitroplants pourra traduire une variation intervenue après un nombre élevé de cycles de culture.

Cette hypothèse événementielle a été développée dans deux publications de CÔTE *et al.* (1993a, 1993b). Elle permettrait d'expliquer que des clones de vitroplants, multipliés avec une même technique de micropropagation, peuvent présenter, à l'issue d'un même nombre de cycles de multiplication, des pourcentages différents de variants. D'après les hypothèses de calcul retenues dans les publications citées, les résultats pourraient s'échelonner de 0 à plus de 50 % de variants parmi la population de vitroplants obtenus en fin de culture. Cela est en accord avec les proportions très diverses de variants, observées lors de la multiplication de certains cultivars comme la Grande naine ou le Williams.

On peut déduire du raisonnement précédent que seule la comparaison des fréquences de variations permet d'apprécier l'effet de différentes techniques de micropropagation sur la conformité des plants produits, ou sur la stabilité de différents cultivars vis-à-vis des variations. En revanche, si ce sont seulement les pourcentages de variants qui sont comparés, le dispositif expérimental utilisé doit être suffisamment puissant pour que les différences observées soient la conséquence de différences dans la fréquence d'apparition des variations et non pas la conséquence de différences dans la précocité aléatoire d'apparition des variations.

Nombre de cycles de subcultures *in vitro* et pourcentage de variants

Une relation a souvent été établie chez plusieurs espèces entre la durée de culture *in vitro* et une augmentation du pourcentage de plants variants. Chez les bananiers, les résultats sont contradictoires. Si une telle relation a été effectivement mise en évidence chez le cultivar Grande naine par REUVENI and ISRAELI (1990), SANDOVAL *et al.* (1991), ainsi que VUYLSTEKE *et al.* (1991), n'ont pas confirmé ces résultats chez différents cultivars de plantains.

Si on se reporte à l'hypothèse déjà évoquée (le caractère variant est transmis à la descendance *in vitro* d'un vitroplant qui a subi une variation, et des variations peuvent intervenir à chaque subculture), on conçoit que la proportion de plants variants dans une lignée augmente à chaque cycle de culture *in vitro*.

L'augmentation du pourcentage de variants en fonction du nombre de subcultures serait une fonction exponentielle dépendante de la fréquence de variation et du nombre de subcultures (CÔTE *et al.*, 1993a, 1993b).

Le raisonnement développé précédemment pourrait expliquer les résultats contradictoires observés : la plus ou moins grande précocité d'apparition des variations pourrait masquer l'effet du nombre de subcultures sur le pourcentage de variants.

Facteurs influençant les variations

Le cultivar

L'importance de l'instabilité générée par la culture *in vitro* pourrait être liée au cultivar. Cette hypothèse est soulignée par les études entreprises sur plantains. Les travaux de VUYLSTEKE *et al.* (1991) montrent en effet que les pourcentages de variants de 7 cultivars AAB, multipliés selon une même technique de micropropagation, s'échelonnent, après un nombre réduit de cycles de culture, de 0,5 à 69 %. Ces auteurs soulignent la relative stabilité des cultivars de type French, l'instabilité de cultivars de type "Corne et Faux Corne", et la très importante instabilité du cultivar Bise Egame 2.

La composition du milieu de culture

La composition du milieu de culture, et plus particulièrement son contenu en régulateurs de croissance, est souvent considérée comme un facteur influençant l'apparition de variants en culture de tissus. Chez les bananiers, REUVENI *et al.* (1986) a comparé la conformité de plants multipliés sur 16 milieux de culture qui se différenciaient principalement les uns des autres par leur contenu en auxines et cytokinines. Aucune différence significative entre traitements n'a pu être mise en évidence. Ce résultat n'indique pas pour autant que les milieux de culture utilisés pour la micropropagation des bananiers ne sont pas à l'origine de variations, mais souligne que celles-ci apparaissent à un taux comparable sur une large gamme de milieux.

Le type de bourgeonnement et le type d'explant source

La régénération de plantes à partir de tissus indifférenciés est également une cause de variation souvent évoquée en culture *in vitro*. Cependant il est peu probable que de telles régénérations aient lieu au cours de la micropropagation des bananiers, car les plants sont alors issus de bourgeonnements axillaires et adventifs (BANERJEE *et al.*, 1986).

Si l'origine de certaines variations était liée à une hétérogénéité du matériel source, il serait possible qu'un bourgeonnement de type adventif puisse produire des plants non conformes. Chez le cultivar Grande naine multiplié *in vitro*, il existe un bourgeonnement de type adventif, désigné sous les termes de "néotige" ou de "protocorm-like structure". Ce type de bourgeon a été isolé, puis multiplié *in vitro*. Le lot de plants obtenus à partir de ce matériel présentait un pourcentage de variants comparable à celui de plants obtenus à partir d'un bourgeonnement classique (AUBOIRON et ACHARD, 1993 ; résultats non publiés, CIRAD-Montpellier et CRBP⁵ Cameroun).

Une expérimentation visant à déterminer l'influence du matériel mis en culture, sur l'apparition de variations, a également été réalisée (résultats non publiés, CIRAD-FLHOR Montpellier et CIRAD-FLHOR Guadeloupe). 4 types d'explants source correspondant à différents types d'organes ont été comparés :

- rejets prélevés sur des pied-mères à la jetée,
- rejets prélevés sur des pied-mères à la récolte,
- inflorescences mâles,
- "rejets choux" ("water sucker").

Chaque traitement était constitué d'au moins 200 plants produits à partir de 20 rejets. Aucune différence significative de pourcentage de variants n'a été observée entre les 4 lots de vitroplants obtenus.

Identification précoce des variants

Comme l'a déjà souligné WITHERS (1993), il est probable que le développement de marqueurs précoces des variations devrait permettre de mieux comprendre l'instabilité générée par la culture *in vitro* ; ces marqueurs pourraient également être utilisés de façon pratique pour repérer et éliminer les plants variants.

Caractérisation morphologique des variants en phase d'acclimatation

Plusieurs travaux ont été consacrés à la caractérisation morphologique des variants de Grande naine et de Williams en phase d'acclimatation (CÔTE *et al.*, 1991 ; DANIELLS et SMITH, 1991 ; ISRAELI *et al.*, 1991). Ces études montrent que les variants nains se distinguent principalement des plants conformes par un port engorgé dû à des pétioles courts, et par une longueur réduite des limbes. L'identification des plants nains en phase d'acclimatation, à partir de leurs caractéristiques morphologiques, est un moyen simple de les éliminer avant plantation. 50 à 75 % des variants nains peuvent ainsi être repérés en pépinière (DANIELLS and SMITH, 1991 ; MARIE, 1992 ; résultats non publiés, CIRAD-FLHOR Montpellier et Martinique). Cette identification nécessite cependant que les conditions d'acclimatation soient les moins limitantes possibles pour éviter une confusion entre plants stressés et variants.

D'autres types de variants de Grande naine, comme les "mosaic-like" et les plants panachés, peuvent être en partie éliminés en phase d'acclimatation (ISRAELI *et al.*, 1991).

L'utilisation de vitroplants issus de la multiplication de variants stables, dans les lots de plants en phase d'acclimatation, permet de disposer d'une référence qui facilite l'identification des hors types.

Caractérisation morphologique des variants *in vitro*

La caractérisation des variants au stade *in vitro* a été étudiée chez les cultivars du sous-groupe Cavendish. ISRAELI *et al.*, (1991) ont conclu que seuls les types très caractéristiques, comme les "extra nains" et certains plants panachés, peuvent être identifiés en phase de micropropagation. Il a également été observé qu'en phase de prolifération et de croissance *in vitro* 15 à 20 % seulement des vitroplants issus de rejets de variants nains présentent des caractéristiques d'engorgement typiques, et que cette caractéristique est également présente chez près de 10 % des plants conformes (résultats non publiés, CIRAD-FLHOR Montpellier). Ces travaux montrent que l'identification précoce des variants nains sur des critères morphologiques en phase *in vitro* n'est donc pas actuellement envisageable.

5. CRPB : Centre régional bananiers et plantains (Cameroun).

Caractérisation moléculaire

Par analyse d'isozymes du système des polyphénols oxydases, RODRIGUEZ *et al.* (1991) ont pu distinguer un variant nain d'un plant conforme chez le cultivar Burro Cernia (ABB). En revanche, l'analyse des protéines totales par électrophorèse n'a pas permis de mettre en évidence, chez le cultivar Williams, des différences entre plants conformes et plants variants de phénotypes nains et "mosaic-like" (REUVENI *et al.*, 1986).

Plusieurs équipes travaillent actuellement sur la caractérisation de la diversité dans le genre *Musa* par les techniques des marqueurs moléculaires. A notre connaissance, ces techniques ont été encore peu employées pour caractériser les variants de bananiers et plantains. FORD-LLOYD *et al.* (1993), déjà cités, ont cependant caractérisé, par la technique des RAPD, le variant nain du cultivar Unapope. Sur un sujet voisin, KAEMMER *et al.* (1992) ont pu identifier, par la technique d'oligonucléotide-fingerprinting, un mutant de Grande naine (GN 60A) induit par irradiation.

Caractérisation des gibberellines des variants du cultivar Grande naine

Un dosage des gibbérellines (GAs) des variants nains et géants du cultivar Grande naine a été réalisé récemment (résultats non publiés de SANDOVAL et DOUMAS, CIRAD-FLHOR et INRA Orléans). 4 principales GAs ont été identifiées : les GA3, GA7, GA9 et GA20. Les dosages quantitatifs par spectrométrie de masse ont mis en évidence une concentration en GA3 chez les variants nains près de 3 fois inférieure à celle des plants conformes, et une concentration de GA20 chez les variants géants plus de 4 fois supérieure à celle des plants conformes. Ces recherches sont poursuivies pour développer une méthode simplifiée de dosage des GAs des bananiers par immunologie.

Une perturbation du métabolisme des GAs chez les variants nains a pu être mise en évidence par l'effet d'un apport exogène de ces régulateurs sur le développement des plants conformes et variants :

- *in vitro*, les variants nains du cultivar Williams, placés sur un milieu enrichi en GA3, se différencient des vitroplants conformes par un ralentissement moins marqué de l'émission foliaire et par un aspect plus compact (REUVENI, 1990) ; cette différence de comportement est cependant insuffisante pour repérer de façon stricte les plants variants nains ;
- chez les variants géants de Grande naine, un apport de GA3 se traduit *in vitro* par une élongation rapide des limbes permettant de distinguer ces plants du phénotype conforme (CIRAD-FLHOR Montpellier, résultats non publiés) ;
- l'effet d'un apport de GA3 par pulvérisation a été testé également sur des vitroplants de Grande naine en phase d'acclimatation (CÔTE *et al.*, 1991 ; FOLLIOT *et al.*, 1993, résultats non publiés, CIRAD-FLHOR, Montpellier et Martinique). Cet apport aboutit à un accroissement de la longueur des pétioles des plants conformes, plus rapide que celui des plants nains. En conséquence, le traitement renforce les différences morphologiques permettant de caractériser variants nains et plants conformes, et peut donc faciliter le repérage des plants nains dans un lot de vitroplants en phase d'acclimatation.

Contrôle du pourcentage de variants lors de la micropropagation de masse

Plusieurs travaux ont présenté des règles de base dont l'application permet de limiter le pourcentage de variants obtenus à l'issue d'une phase de multiplication *in vitro* (SMITH, 1988 ; REUVENI and ISRAELI, 1990 ; SMITH and HAMILL, 1991).

Dans le sous-groupe des Cavendish, ces règles reposent principalement sur une limitation du nombre de subcultures, et sur une élimination, avant plantation, d'une partie des plants variants sur des critères morphologiques.

Pour le cultivar Grande naine, le CIRAD a défini une méthodologie qui permet de maintenir un faible pourcentage de variants au champ :

- le pied-mère doit être parfaitement caractéristique du cultivar à multiplier ; cette règle ne constitue pas un moyen de limiter les risques de variations, mais permet d'éviter la micropropagation de plants au phénotype ne correspondant pas exactement au standard du cultivar à multiplier ;
- la micropropagation est réalisée par une technique classiquement utilisée chez les bananiers (CÔTE *et al.*, 1990) ;
- pour limiter le risque de diffuser à un utilisateur un lot de vitroplants constitué d'une seule lignée, dans laquelle une variation est intervenue au cours des premiers cycles de multiplication, une attention particulière est apportée à la préparation des lots de vitroplants. Chaque lot doit être constitué de plants prélevés dans au moins 20 lignées différentes ; pour la conservation des ressources génétiques cette règle est malheureusement difficile à adopter ;
- le nombre de cycles de subcultures d'une lignée est limité à 10 ;
- le tri des variants, à partir de leurs caractéristiques morphologiques, est réalisé en phase de sevrage et d'acclimatation. Les lots de vitroplants sont préalablement répartis par classes de taille pour faciliter l'identification des variants. Un dernier repérage des plants hors types est effectué après le début de plantation au champ, lorsqu'il est encore possible de remplacer facilement les plants variants par des plants conformes.

Ces règles de base ont été déterminées pour un objectif précis de micropropagation. Elles doivent naturellement être adaptées à chaque nouvelle application des techniques de micropropagation.

Remerciements

Les auteurs remercient leurs collègues du CIRAD Montpellier (ALVARD D., DUBOIS C., DOMERGUE R., FOLLIOT M., KERBELLEC F., PERRIER X., TEISSON C.), du CRBP au Cameroun (ACHARD R.), du CIRAD Guadeloupe (BAKRY F., CARRIERES J.L., DOREL M.) pour la communication de leurs résultats non publiés, et Vitropic S.A. pour sa participation à plusieurs des travaux présentés.

Tableau 1. Type et pourcentage de variants chez les bananiers et les plantains.

Cultivars	Génome	Matériel source	Types de variation	Pourcentage de variants	Année de publication	Auteur (s)
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Nanisme, fruits déformés	5-19	1985	POOL, IRIZARRY
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Anomalie de coloration des pétioles	0-2,8	1986	REUVENI <i>et al.</i>
Williams	AAA	Apex végétatif	Nanisme	2,4-18,6		
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Mosaïc-like	7,2		
Nathan	AAA	Apex végétatif	Mosaïc-like	1,4-12,3		
Giant Cavendish	AAA	Apex végétatif	Anomalies foliaires Nanisme Anomalie de coloration du pseudotrunc	3	1986	HWANG
Giant Cavendish	AAA	Apex végétatif	Résistance au <i>Fusarium oxysporium</i> F. Sp. <i>cubense</i>	non indiqué	1987	HWANG, KO
Maricongo Dwarf Plantain	AAB	Apex végétatif	Réversion type "French"	21-38	1987	RAMCHARAM <i>et al.</i>
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Nanisme Type "Valery" Fruits déformés Anomalie foliaire	25	1987	STOVER
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Type "Valery" Nanisme Limbes panachés	1 0,1	1987	ARIAS, VALVERDE
Williams	AAA	Apex végétatif	Nanisme	7-90	1988	WALDUCK <i>et al.</i>
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Feuilles allongées	1-67		
Williams	AAA	Apex végétatif	Nanisme Gigantisme Limbes panachés Doigts courts Anomalie de coloration du pseudotrunc	4-32	1988	SMITH
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Différence de hauteur	non indiqué	1988	STOVER
Agbagba	AAB	Apex végétatif	Réversion type "French" Limbes à port pendant Limbes déformés	6	1988	VUYLSTEKE <i>et al.</i>
French Plantain	AAB	Apex végétatif	Différence de hauteur Variation du nombre de mains Doigts courts	19,6 10,4	1988	VENTURA <i>et al.</i>
Americani	AAA	Apex végétatif	Différence de hauteur	19,6	1988	VENTURA <i>et al.</i>
Grande naine	AAA	Apex floral	Port en rosette	0,1	1988	ESQUIVEL
Dwarf Cavendish Grande naine	AAA	Apex végétatif	Nanisme	10	1989	ROBINSON, NEL
Williams	AAA	Apex végétatif	Nanisme	10,2-12,3	1990	REUVENI, ISRAELI
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Mosaïc-like	0,1-1,9		
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Nanisme Mosaïc-like	3,4-20,0 1-9		
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Non indiqué	5	1990	PÉREZ
New Guinea Cavendish	AAA	Cals	Nanisme Gigantisme Doigts courts et fins Fleurs actinomorphes	22	1990	DREW, SMITH
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Nanisme Anomalie de phyllotaxie	5-20	1990	KWA, GANRY
Falso Cuerno	AAB	Apex végétatif	Nanisme Réversion type "French" Gigantisme Anomalie de coloration du pseudotrunc	10,6	1991	SANDOVAL <i>et al.</i>
Williams	AAA	Apex végétatif	Nanisme		1991	ISRAELI <i>et al.</i>
Grande naine	AAA	Apex végétatif	Mosaïc Like Limbes panachés Anomalie de coloration du pseudotrunc Anomalies foliaires	non indiqué		
Bobby Tannap Ntanga 2 Obino l'Ewai Big Ebanga Agbagba Ubok Iba Bise Egome 2	AAB AAB AAB AAB AAB AAB AAB	Apex végétatif Apex végétatif Apex végétatif Apex végétatif Apex végétatif Apex végétatif Apex végétatif	Anomalie de dégénérescence de l'inflorescence	0-69	1991	VUYLSTEKE <i>et al.</i>
False Horn	AAB	Apex végétatif	Réversion type "French"	0-100	1993	KRIKORIAN <i>et al.</i>
French	AAB	Apex végétatif	Anomalies type "virus"	0-25		

Références

- ACHARD (R.) et AUBOIRON (E.). 1992.
Conformité de vitroplants de bananiers Grande naine issus de culture en minitouffe et milieu liquide.
Nyombé (Cameroun) : CRBP et CIRAD-FLHOR, document interne, 5 p.
- ARIAS (O.) y VALVERDE (M.). 1987.
Producción y variación somaclonal de plantas de banano variedad Grande naine producidas por cultivo de Tejidos.
Revista de la Asociación Bananera Nacional, 11 (28), 6-11.
- AUBOIRON (E.) et ACHARD (R.). 1993.
Conformité de vitroplants issus de la multiplication de néotige chez le cultivar Grande naine.
Nyombé (Cameroun) : CRBP et CIRAD-FLHOR, document interne, 5 p.
- BANERJEE (N.), VUYLSTEKE (D.) and DE LANGHE (E.). 1986.
Meristem tip culture of *Musa*: histomorphological studies of shoot bud proliferation.
In: *Plant tissue culture and its agricultural applications*. London: WITHERS (L.) and ALDERSON (P.), eds, Butterworths, 139-147.
- CÔTE (F.), ALVARD (D.), DOMERGUE (R.), NAVARRO-MASTACHE (L.) et TEISSON (C.). 1990.
Micropropagation *in vitro* du bananier.
Fruits, numéro spécial banane, 112-118.
- CÔTE (F.), FOLLIOT (M.), KERBELLEC (F.) and TEISSON (C.). 1991.
Morphological characterisation of banana vitroplantlets (cv. Grande naine) propagated from dwarf off-types and true-to-type plants. Effects of the addition of gibberellin.
In: *X^e Réunion ACORBAT*. México: ACORBAT, 16 p., in press.
- CÔTE (F.), PERRIER (X.) and TEISSON (C.). 1993a.
Somaclonal variation in *Musa sp.* Theoretical risks and risk management. Future research prospects.
In: *Biotechnology Applications for banana and plantain improvement*. San José (Costa Rica): INIBAP. Proceedings of the workshop held in San José, Costa Rica, 27-31 January 1992, 192-199.
- CÔTE (F.), PERRIER (X.) and TEISSON (C.). 1993b.
A simulation model for off-types rate evolution in tissue culture. (soumis à publication).
- CHAMPION (J.). 1967.
Notes et documents sur les bananiers et leur culture. Botanique et génétique des bananiers. Tome I.
Paris (France) : Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (I.F.A.C.), éditions Setco, 240 p.
- DANIELLS (J.). 1991.
"J.D. Special" - a tissue - culture off type with commercial potential ?
Banana newsletter, n°14, p. 9.
- DANIELLS (J.) and SMITH (M.). 1991.
Post-flask management of tissue-cultured bananas.
ACIAR Technical Reports, n°18, 8 p.
- DREW (R.) and SMITH (M.). 1990.
Field evaluation of tissue-cultured bananas in South-eastern Queensland.
Australian Journal of Experimental Agriculture, 30, 569-574.
- ESQUIVEL (E.). 1988.
Observaciones preliminares sobre una variación somaclonal en *Musa* (AAA) cv. Grande naine, derivado de meristema floral.
In: *Resúmenes Congreso Científico Nacional Universidad de Panamá*. Panamá : Universidad de Panamá, p. 15.
- FOLLIOT (M.), MARIE (P.), CÔTE (F.). 1993.
Effet d'un apport de gibberelline sur des bananiers nains et conformes (cv. Grande naine) au cours de la phase d'acclimatation et au champ.
Montpellier, France : CIRAD-FLHOR, document interne, 12 p.
- FORD-LLOYD (B.V.), HOWELL (E.) and NEWBURY (H.J.). 1993.
An evaluation of Random Amplified Polymorphic DNA (RADP) as a tool for detecting genetic instability in *Musa* germplasm stored *in vitro*.
In: *Breeding Banana & Plantain: Proceedings of an International Symposium on Genetic Improvement of Bananas for Resistance to diseases and pests held in Montpellier, France, 7-9 september 1992*. Montpellier (France) : CIRAD-FLHOR, INIBAP, 393 p.
- HWANG (S.C.). 1986.
Variation in banana plants propagated through tissue culture.
Journal of the Chinese Society for Horticultural Science, 32, 117-125.
- HWANG (S.C.) and KO (W.H.). 1987.
Somaclonal variation and screening for resistance to *Fusarium wilt*.
In: *Banana and plantain Breeding Strategies*. Cairns (Australia): ed. PERSLEY (G.) and DE LANGHE (E.), Aciar proceedings of an international workshop, 13-17 october 1986, 21, 151-156.
- HWANG (S.C.) and KO (W.H.) 1990.
Selection of improved Cavendish aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques.
Scientia Horticulturae, 48, 71-88.
- ISRAELI (Y.), REUVENI (O.) and NAMERI (N.). 1988.
Genetic variability and performance of *in vitro* propagated banana plants.
In: *Memoria IV Reunión sobre agrofitología del banano (1986)*. San José (Costa Rica): GUZMAN (CH.) and CALDERÓN (R.), eds, ASBANA, 97-104.
- ISRAELI (Y.), REUVENI (O.) and LAHAV (E.). 1991.
Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques.
Scientia Horticulturae, 48, 71-88.
- KARP (A.). 1991.
On the current understanding of somaclonal variation.
Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology, 7, 1-58.
- KAEMMER (D.), AFZA (R.), WEISING (K.), KAHL (G.) and NOVAK (F.). 1992.
Oligonucleotide and amplification fingerprinting of wild species and cultivars of banana (*Musa spp.*).
Biotechnology, 10, 1030-1035.
- KRIKORIAN (A.). 1989.
In vitro culture of bananas and plantains: background update and call for information.
Tropical Agriculture, 66 (3), 194-200.
- KRIKORIAN (A.), IRIZARRY (H.), CRONAUER-MITRA and RIVERA (E.). 1993.
Clonal fidelity and variation in plantain (*Musa*, AAB) regenerated from vegetative stem and floral axis tips *in vitro*.
Annals of Botany, 71, 519-535.
- KWA (M.) et GANRY (J.). 1990.
Utilisation agronomique des vitroplants de bananier.
Fruits, numéro spécial banane, 107-111.
- LANGHE (E. DE). 1961.
La taxonomie du bananier plantain.
Journal d'Agric. Trop. et Bot. appl., VIII, 10-11.

- LARKIN (P.J.) and SCOWCROFT (W.R.). 1981.
Somaclonal variation. A novel source of genetic variability from cell cultures for improvement.
Theor. Appl. Genet., 60, 197-214.
- MARIE (P.). 1992.
Bilan des expérimentations sur vitroplants de bananier en Martinique.
Martinique : CIRAD-FLHOR, document interne, 117 p.
- MEINS (F.). 1983.
Heritable variation in plant cell culture.
Ann. Rev. Plant. Physiol., 34, 327-346.
- PEREZ (L.). 1990.
Cultivo de meristemos en banano para el establecimiento de una plantación comercial en País-Sixaola.
ASBANA, Informe Anual 1989, Departamento de Investigación, San José, Costa Rica, 52-53.
- POOL (D.) and IRIZARRY (H.). 1987.
"Off type" banana plants observed in a commercial planting of Grande naine propagated using the *in vitro* culture technique.
In: *Reunion de la Asociación para la cooperación en investigaciones de banano en el Caribe y en América tropical*. San José, (Costa Rica): GALINDO (J.) and JARAMILLO (R.), eds, ACORBAT Memorias, 7, 1985, CATIE, Costa Rica, 99-102.
- RAMCHARAN (C.), GONZALEZ (A.) and KNAUSENBERGER (W.). 1987.
Performance of plantains produced from tissue-cultured plantlets in St. Croix, U.S. Virgin Islands.
In: *Proceedings of the third meeting, International Association for Research on plantain and bananas, 27-31 May 1985*. Abidjan, Côte-d'Ivoire : IARPB, 36-39.
- REUVENI (O.). 1990.
Methods for detecting somaclonal variants in "Williams" bananas.
In: *Identification of genetic diversity in the genus Musa*. Philippines: JARRET (R.), ed., INIBAP. Proceedings of an International workshop held at Los Baños, Philippines (5-10 sept 1988), 211 p.
- REUVENI (O.) and ISRAELI (Y.). 1990.
Measures to reduce somaclonal variation *in vitro* propagated bananas.
Acta Horticulturae, 275, 307-313.
- REUVENI (O.), ISRAELI (Y.), DEGANY (H.) and ESHDAT (Y.). 1986.
Genetic variability in banana plants multiplied via *in vitro* techniques.
Rome: International Board for Plant Genetic Resources, Research Report AGPG, IBPGR/85/216, 36 p.
- ROBINSON (J.) and NEL (D.). 1989.
Mutations in tissue-culture field plantings of banana.
Information bulletin, 200, 7.
- RODRIGUEZ (N.), VENTURA (J.), RODRIGUEZ (R.), LOPEZ (J.), PINO (J.) et ROMAN (M.). 1991.
L'amélioration génétique des bananiers et des bananiers plantains à l'INIVIT.
Infomusa, 1 (1), 3-5.
- SANDOVAL (J.), CÔTE (F.) and ESCOUTE (J.). 1993.
Chromosomal instability in true-to-type and off-types *in vitro* plantlets of banana cv. Grande naine (*Musa AAA*).
(soumis à publication).
- SANDOVAL (J.), TAPIA (A.), MÜLLER (L.) y VILLALOBOS (V.). 1991.
Observaciones sobre la variabilidad encontrada en plantas micropropagadas de *Musa* cv. "Falso Cuerno" AAB.
Fruits, 46 (5), 533-539.
- SMITH (M.K.). 1988.
Influencing the genetic stability of micropropagated bananas.
Fruits, 43 (4), 219-233.
- SMITH (M.) and HAMILL (S.). 1991.
Use of tissue culture for the propagation and improvement of bananas and plantains.
In: *Proceedings of a regional technical meeting on diseases affecting banana and plantain in Asia and the Pacific*. Brisbane, (Australia): R. VALMAYOR (INIBAP), ed, 15-18 April 1991, 158-173.
- STOVER (R.H.). 1987.
Somaclonal variation in Grande naine and Saba bananas in the nursery and field.
In: *Bananas and plantains breedings strategies*. Cairns (Australia): PERSLEY (G.J.), DE LANGHE (E.), eds. Proceedings of an International workshop held at Cairns, Australia, 13-17 October, 1986. Aciar Proceedings, 21, 136-139.
- STOVER (R.H.). 1988.
Variation and cultivar nomenclature in *Musa AAA* group, Cavendish subgroup.
Fruits, 43 (6), 353-357.
- STOVER (R.H.) and SIMMONDS (N.). 1987.
The *Eumusa* series of cultivars.
In: *Bananas*. London: STOVER and SIMMONDS, eds, Longman Scientific and Technical, Tropical agricultures series, third edition, 112-169.
- SWARTZ (H.J.). 1991.
Post culture behavior: genetic and epigenetic effects and related problems.
In: *Micropropagation, Technology and Application*. Dordrecht: DEBERGH (P.C.) and ZIMMERMAN, (R.H.), eds, Kluwer Academic Publishers, 95-121.
- TÉZENAS DU MONTCEL (H.). 1983.
Variabilité dans l'ensemble des cultivars de plantains de la collection d'Ekona au Cameroun.
Fruits, 38 (4), 246-255.
- VENTURA (J.), ROJAS (M.), YERA (E.), LOPEZ (J.) y RODRIGUEZ (A.). 1988.
Variación somaclonal en material de plátano (*Musa spp.*) obtenido mediante micropropagación *in vitro*.
Ciencia y técnica en la Agricultura, 11 (1), 7-16.
- VUYLSTEKE (D.), SWENNEN (R.) and LANGHE (E. DE). 1991.
Somaclonal variation in plantain (*Musa spp.*, AAB group) derived from shoot-tip culture.
Fruits, 46 (4), 429-439.
- VUYLSTEKE (D.), SWENNEN (R.), WILSON (G.) and LANGHE (E. DE). 1988.
Phenotypic variation among *in vitro* propagated plantain (*Musa*, sp., cultivar AAB).
Scientia Horticulturae, 36, 79-88.
- WALDUCK (G.), DANIELLS (J.) and GALL (E.). 1988.
Results of survey of off-types in tissue cultured Cavendish bananas in north Queensland 1987.
Bananatopics, 8, 11-12.
- WITHERS (L.A.). 1993.
Early detection of somaclonal variation.
In: *Biotechnology Applications for banana and plantain improvement*. San José (Costa Rica): INIBAP, proceedings of the workshop held in San José, Costa Rica, 27-31 January 1992, 200-208.