

# Activation de bourgeons latents et utilisation de fragments de tige du bananier pour la propagation en masse de plants en conditions horticoles *in vivo*

Moïse Kwa

Centre Africain de Recherches  
sur Bananiers et Plantains  
(CARBAP), Njombe,  
BP 832, Douala,  
Cameroun

## Activation of latent buds and use of banana stem fragments for the *in vivo* mass propagation of seedlings.

**Abstract — Introduction.** *In vitro* multiplication techniques are not adapted to banana growers. Moreover, the use of *in vivo* seedbed techniques makes it possible to increase the rate of banana multiplication in the field, but it presents the risk of multiplying contaminated materials and losing many buds present on the mother plant. To mitigate these problems, the CARBAP (Cameroon) have developed a new technique for *in vivo* mass multiplication, the technique of the “seedlings resulting from stem fragments” (PIF), which allows the activation of latent buds and the quick production of large quantities of healthy plantation materials in soil-less culture conditions. **Materials and methods.** Activation of latent buds was tested during a first experiment. Explants provided with only one bud were taken from banana shoots of three plantain (AAB) varieties and a banana (AAA) variety, then they were cultured in a germinator. A second experiment tested banana proliferation capacities. Explants with several buds, obtained from small suckers of ‘Grande Naine’ (AAA) and from four plantain (AAB) cultivars, were taken, then incised across before being put in a germinator. The time necessary for the appearance of the first shoots, rate of bud burstings, number of formed and separated shoots, and time for the shoot formation until the seedling isolation were measured. **Results.** At the end of the first experiment, buds recovered 80 d after the explant culture were (4 to 15) times as numerous as the number of mother plants used. However, this number varied with the variety, the physiological stage and the initial quality of the material. It was the same for the response time, ranging between (3 and 4) weeks, and for the rate of bud burstings. At the end of the second experiment, the average proliferation rates were (10 to 20) shoots per explant, obtained in (30 to 40) d with (60 to 70)% of plantain explants. During the same period, a maximum of 25 shoots per explant was observed with ‘Bâtard’ while ‘French Clair’ could produce between (28 and 36) shoots per explant in 13% of the cases. **Conclusion.** The PIF technique allows the *in vivo* induction of an active bud proliferation on banana stem fragments under particular conditions of temperature and hygrometry and without hormone addition. It is easily usable by growers.

**Cameroon / Musa (bananas) / Musa (plantains) / plant propagation / micro-propagation / meristem culture / soilless culture / shoots**

## Activation de bourgeons latents et utilisation de fragments de tige du bananier pour la propagation en masse de plants en conditions horticoles *in vivo*.

**Résumé — Introduction.** Les techniques de multiplication *in vitro* de bananiers ne sont pas adaptées aux paysans. Par ailleurs, l'utilisation de techniques de pépinière *in vivo* permet d'augmenter le taux de multiplication des bananiers au champ, mais elle présente le risque de multiplier du matériel contaminé et de perdre de nombreux bourgeons présents sur le pied mère. Pour pallier ces problèmes, nous avons mis au point au CARBAP (Cameroun) une nouvelle technique de multiplication de masse *in vivo*, la technique des « plants issus de fragments de tige » (PIF) qui permet d'activer des bourgeons latents et de produire rapidement hors sol des quantités importantes d'un matériel de plantation sain. **Matériel et méthodes.** L'activation des bourgeons latents a été testée au cours d'une première expérience. Des explants munis d'un seul bourgeon ont été prélevés sur des tiges de bananiers de trois variétés de plantain (AAB) et d'une variété de banane (AAA), puis ils ont été ensemencés dans un germoir. Une deuxième expérience a testé les capacités de prolifération de certains bananiers. Des explants à plusieurs bourgeons, obtenus à partir de petits rejets de bananier ‘Grande naine’ (AAA) et de quatre cultivars de plantains (AAB), ont été prélevés puis incisés en croix avant d'être mis en germoir. Le temps nécessaire à l'apparition des premières pousses, le taux de débourrement, le nombre de pousses formées et sevrées, et la durée de formation des pousses jusqu'au sevrage ont été mesurés. **Résultats.** À l'issue de la première expérience, les bourgeons récupérés 80 j après l'ensemencement des explants ont représenté (4 à 15) fois le nombre de pieds mères utilisés. Ce nombre a cependant varié avec la variété, l'état physiologique et la qualité du matériel initial. Il en a été de même pour le temps de réponse compris entre (3 et 4) semaines et pour le taux de débourrement des bourgeons. À l'issue de la deuxième expérience, des taux de prolifération moyens de (10 à 20) pousses par explant ont été obtenus en (30 à 40) j sur (60 à 70) % des explants de plantains. Au cours de cette même période, un maximum de 25 pousses par explant a été observé chez Bâtard tandis que French clair a pu produire, dans 13 % des cas, entre (28 et 36) pousses par explant. **Conclusion.** La technique des PIF permet d'induire *in vivo* une active prolifération de bourgeons sur des fragments de tige de bananiers dans des conditions particulières de température et d'hygrométrie et sans adjonction d'hormones. Elle est facilement utilisable par les planteurs.

**Cameroon / Musa (bananes) / Musa (plantains) / multiplication des plantes / micro-propagation / culture de méristème / culture sans sol / pousse**

Reçu le 26 mai 2003  
Accepté le 16 juillet 2003

Fruits, 2003, vol. 58, p. 315–328  
© 2003 Cirad/EDP Sciences  
All rights reserved  
DOI: 10.1051/fruits:2003018

RESUMEN ESPAÑOL, p. 328

## 1. Introduction

La production rapide de matériel de plantation est l'une des principales préoccupations de nombreux programmes de recherche sur les bananiers [1]. Différentes techniques de multiplication végétative ont été développées *in vitro* pour produire des quantités massives de plants : micropropagation à partir de méristèmes cultivés en milieu gélosé ou liquide, embryogenèse somatique, suspensions cellulaires embryogènes, etc. [2–6]. Toutefois, malgré les succès obtenus avec ces méthodes pour multiplier les bananiers utilisés en plantations industrielles, ces techniques *in vitro* ne sont pas adaptées aux petits producteurs des pays du sud qui, tels les producteurs de plantain, sont régulièrement confrontés au problème de la disponibilité des rejets pour créer, replanter ou étendre leurs bananeraies.

Quelques techniques de multiplication en pépinière *in vivo* ont permis d'augmenter le taux de multiplication des bananiers au champ [7–9]. Ce taux, initialement de 1 à 3 rejets par pied dans les conditions de culture paysanne, est passé à un nombre de 4 à 8 rejets par pied en moyenne après application de ces méthodes [2, 10, 11]. Parmi les techniques utilisées *in situ*, on peut citer entre autres : le « pliage de la pseudo-tige », les « décapitations » parmi lesquelles celle dite de « fausse décapitation » a donné les meilleurs résultats (6 à 10 rejets par plante) [10, 12], la technique d'« éclatement du bulbe » [13], etc. Il existe aussi des formes de multiplication utilisées *in vivo* en conditions horticoles hors sol, notamment la technique des « mini set » [14], la « multiplication sur souche décortiquée » [15, 16], etc. Bien qu'accessibles aux paysans, plusieurs de ces méthodes *in vivo* présentent le risque de multiplier du matériel contaminé par des nématodes ou des charançons par exemple si certaines précautions ne sont pas prises lors de la mise en place de la parcelle de multiplication : application de nématicides et d'insecticides sur les parcelles utilisées pour ces multiplications ou choix pour ces opérations d'un sol assaini ou indemne de parasites spécifiques des bananiers. En outre, la durée de production des rejets pré-

sente l'inconvénient d'être longue ; six à douze mois peuvent en effet être nécessaires pour obtenir du matériel de plantation [16]. D'autre part, de nombreux bourgeons formés sur pied-mère demeurent dans ce cas inexploités [17]. Pour réduire ces problèmes et pour optimiser l'exploitation du potentiel rejeonnant du bananier, une nouvelle technique de multiplication rapide a été mise au point par le Centre Africain de Recherches sur Bananiers et Plantains au Cameroun (CARBAP). Il s'agit de la « technique des plants issus de fragments de tige » appelée technique des PIF. L'utilisation des fragments de tige du bananier permet d'activer les bourgeons latents pour régénérer des quantités importantes de plants sains dans des délais relativement courts et ajustables aux périodes de plantation.

## 2. Matériel et méthodes

De 1993 à 1998, deux expériences complémentaires ont été menées au CARBAP pour mettre au point la technique des PIF. Le principe de base repose sur l'activation des sites de bourgeons potentiels présents sur la tige pour l'obtention de pousses feuillées.

### 2.1. Activation des bourgeons latents

#### 2.1.1. Matériel végétal

Une première expérience a été menée sur quatre variétés de plantain [trois de type « French » ('French sombre', 'Kelong Mekuitou', 'French clair') et un de type « Faux corne » ('Mbouroukou N° 1')] et une variété de bananier dessert ('Grande naine', sous-groupe Cavendish).

Pour chacune de ces variétés, les explants mis en cultures ont été extraits d'un ensemble de (25 à 70) rejets de dimensions variées ou de tiges fleuries. Toutefois, faute de disponibilité de matériel, les rejets de Kelong Mekuitou et de French clair ont été de moins bonne qualité (présence de galeries de charançons) que ceux des autres variétés.

### 2.1.2. Obtention des plantules

Après arrachage au champ, les tiges ont été lavées et débarrassées de leurs racines et de toute partie nécrosée. Les bourgeons, accessibles après « déshabillage » ou « décorticage » (figure 1) de la tige par enlèvement au couteau de toutes les gaines foliaires présentes, ont été repérés par identification des « sites 1 » [17] reconnaissables dans la zone de chevauchement des marges foliaires, légèrement au-dessus du nœud de la tige. Tous les bourgeons repérés, qu'ils soient peu visibles ou développés, ont été prélevés en même temps qu'un fragment de tige (figure 2). Chaque explant contenait donc soit un site de bourgeon représenté par un point soit un seul bourgeon visible.

Les fragments de tige obtenus ou « explants », de formes diverses, avaient entre (3 et 6) cm de côté. Tous les explants prélevés sur une même variété ont été mélangés sans distinction ni de leur position sur la tige, ni du stade de développement de cette tige (végétatif ou en floraison). Ils ont ensuite été mis à sécher à l'ombre (de préférence sous ombrière) et dans un endroit sec pendant (24 à 48) h avant d'être ensemencés dans un germoir spécialement aménagé à cet effet.

Placé sous une ombrière laissant passer à peu près 50 % de la lumière incidente, le germoir, recouvert d'une gaine plastique transparente créant un effet de serre, contenait un substrat essentiellement constitué de sciure de bois de mouture fine ou moyenne (figure 3). Aucun fertilisant ni aucune hormone n'avaient été ajoutés à la sciure de bois, ni avant, ni après l'ensemencement.

Les explants ont été placés dans le germoir de façon à ce que la face portant le bourgeon soit placée contre le substrat, puis ils ont été recouverts d'une couche de (2 à 3) cm de sciure de bois. Cet ensemencement a été suivi d'un arrosage abondant ; des apports d'eau complémentaires ont ensuite été dispensés en appoint deux ou trois fois par semaine, en fonction des conditions climatiques et du degré d'humidité du substrat.

Le sevrage a eu lieu (3 à 6) semaines plus tard, alors que les plants formés pré-

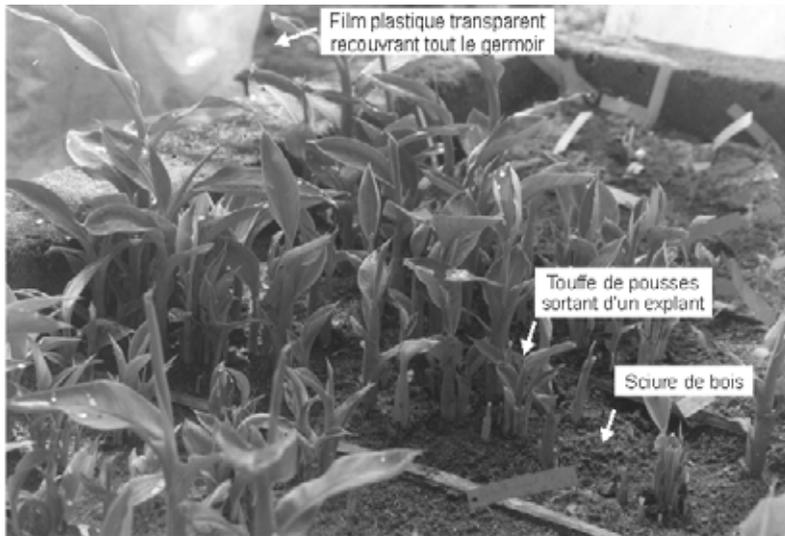


**Figure 1.**  
Tige fleurie de bananier après décorticage.



**Figure 2.**  
Prélèvement de bourgeons avec fragment de tige de bananier (explant à un bourgeon).

sentaient entre trois et cinq feuilles. Les jeunes bananiers ont alors été sortis du germoir et repiqués sous ombrière dans des sacs de polyéthylène noirs ou opaques, d'une contenance de 0,5 L et remplis d'un mélange de terre et de parche de café (1 volume pour 1 volume) stérilisé au feu de bois pendant au moins 12 h.



**Figure 3.** Germoir utilisé pour la multiplication *in vivo* du bananier par la technique des « plants issus de fragments de tiges » (PIF) de bananiers (Carbap, Cameroun).

**Figure 4.** Petits rejets (cultivar 'Bâtard', plantain, AAB) avec pseudotige de (5 à 15) cm au-dessus du sol.



Les plants sevrés ont été mis en terre dans une parcelle expérimentale en station pour en apprécier la conformité par rapport au matériel d'origine et repérer d'éventuels variants.

### 2.1.3. Caractéristiques observées

L'efficacité de la technique de multiplication utilisée a été évaluée à partir de l'observation des caractères suivants :

- nombre potentiel de bourgeons extraits des tiges,

- temps nécessaire pour obtenir la première pousse (en jours) appelé temps de latence,
- nombre d'explants germés à 80 j : ce nombre correspond au nombre de pousses observées puisque chaque explant ne porte qu'un seul bourgeon,
- taux de débourrement à 80 j égal au rapport [(nombre d'explants germés / nombre d'explants ensemencés) × 100],
- nombre de pousses sevrées, donc nombre d'explants germés ayant donné des plants prêts à être repiqués en champ.

## 2.2. Proliférations *in vivo*

### 2.2.1. Matériel végétal

Une deuxième expérience a eu pour objectif principal de provoquer un développement rapide de tous les bourgeons potentiels présents sur une tige et donc de stimuler des proliférations à partir de matériel végétal ou explants de rejets prélevés sur des petits rejets de (5 à 15) cm de hauteur. Ces rejets constituent des fragments de tige plus gros que ceux prélevés dans l'expérience précédente (*figure 4*). Cette expérience a été menée sur six cultivars dont un cultivar de bananier dessert (AAA : la Grande naine du sous-groupe Cavendish) et cinq cultivars de plantains (AAB) ; parmi eux trois cultivars de type French (French sombre, Kelong Mekuitou, French clair), un cultivar de type Faux corne (Mbouroukou N° 1) et un cultivar de type Bâtard (Bâtard classique) ont été retenus. Dix petits rejets ont été utilisés pour chacun de ces cultivars.

### 2.2.2. Obtention des plantules

Après prélèvement, les fragments (petits rejets) détachés de leurs pieds mères ont été mélangés sans tenir compte de leur position sur le plant d'origine (*figure 5*). Compte tenu de l'importance des fragments de corne prélevés, plusieurs bourgeons ou sites de bourgeons non exprimés étaient alors potentiellement activables pour la prolifération.

La préparation des fragments prélevés a débuté comme précédemment par les étapes de lavage, parage, etc. Cependant, dans

ce cas, un parage à « blanc » a été pratiqué ; il a consisté à peler la tige du petit rejet sur (3 à 5) mm, exceptionnellement jusqu'à 1 cm environ de profondeur, pour éviter la présence éventuelle de nématodes (*figure 6*). Le décorticage a consisté à enlever trois ou quatre gaines foliaires en prenant soin de laisser 2 mm de gaine au-dessus de la limite de la corme alors que la pseudo-tige du petit rejet était réduite à (5 ou 10) mm au-dessus du dernier nœud visible de la tige du petit rejet (*figure 6*), puis l'explant a été mis à sécher pendant (48 à 72) h sous ombrière, à l'air libre et dans un endroit sec. La surface de l'explant a alors été rajeunie avec un couteau en réduisant progressivement la pseudo-tige laissée après décorticage à une hauteur finale de (1 à 2) mm (*figure 6*), puis deux incisions croisées ont été effectuées au centre de l'explant.

Environ 1 h après ces incisions, les explants ont été placés côte à côte en germoirs semblables à ceux utilisés pour l'expérience précédente, la partie rajeunie orientée vers le haut. Ils ont été alors recouverts de sciure. Le premier arrosage a eu lieu 24 h après la mise en germoir, puis un ou deux apports d'eau ont ensuite été effectués chaque semaine en appoint en se basant sur les conditions météorologiques extérieures et le degré d'humidité de la sciure dans le germoir.

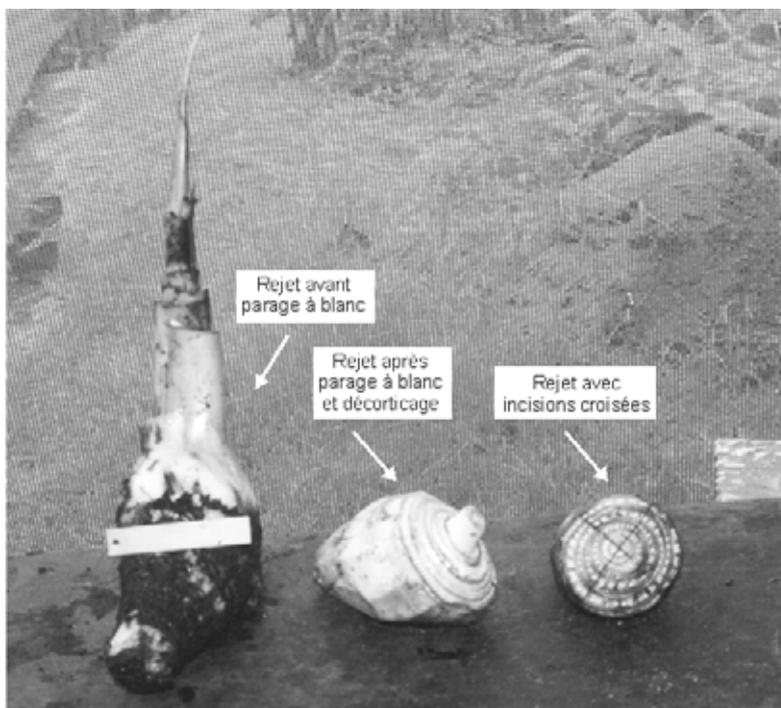
Le sevrage est intervenu dès que les plantules ont eu une ou deux feuilles, les plus petites pousses étant alors repiquées dans des récipients de 12,5 cl et perforés de trois trous à la base. Pour les pousses plus grandes ayant au moins trois feuilles, le sevrage a été conduit comme au cours de la première expérience. Le substrat de sevrage a été le même que celui décrit précédemment.

### 2.2.3. Influence de la variété sur la réactivité à la technique des PIF

Dans le cadre de cette expérience de prolifération utilisant la technique des plants issus de fragments de tige (PIF), un essai testant la réactivité variétale à cette technique a été entrepris sur deux variétés de plantains très présentes en milieu paysan : French clair et Bâtard. Près de 60 fragments par variété ont été analysés à travers un dispositif en blocs de Fischer complètement



**Figure 5.** Lots de rejets de 'French clair' (plantain, AAB) après parage.



randomisés, avec trois répétitions d'une vingtaine d'explants chacune. Après une analyse de variance portant sur le nombre de pousses formées par fragment, la séparation des moyennes a été faite avec le test de Newman-Keuls au seuil de signification de 5 %.

**Figure 6.** Quelques étapes de préparation d'un explant avant mise en germoir pour déclenchement d'une prolifération de pousses chez le bananier (longueur de l'étiquette : 10 cm).

### 2.2.4. Caractéristiques observées

Pour évaluer la prolifération des tiges, les observations ont porté sur :

- le temps nécessaire (en j) pour obtenir la première pousse, dit « temps de latence »,
- le nombre d'explants germés à 40 j appelé « taux de débourrement à 40 j » ; pour cette expérience, un fragment ensemençé a pu permettre le développement de une ou plusieurs pousses,
- le nombre de pousses formées,
- le nombre de pousses sevrées,
- le temps nécessaire pour obtenir 90 % de germination,
- le temps nécessaire pour observer les premières pousses parvenues au sevrage,
- le nombre maximal de pousses obtenues par fragment ensemençé.

### 2.3. Paramètres abiotiques des ensemençements

Au cours des deux expériences d'activation des bourgeons latents et de prolifération *in vivo* de fragments de tiges ensemençés, un suivi hebdomadaire de certains paramètres abiotiques mesurés dans le germoir au cours de l'année a été effectué. Ces données

portant sur l'enregistrement des températures maximales et minimales du substrat, de la température ambiante de l'enceinte du germoir et de l'hygrométrie ambiante ont été comparées à celles équivalentes observées par le poste d'observations météorologiques du site de l'étude.

## 3. Résultats

### 3.1. Activation des bourgeons latents

Le repérage et la récupération de bourgeons latents individuels présents sur des fragments de tige de bananier prélevés sur rejets et/ou tiges fleuries décortiqués a permis de disposer, de 4 à 15 bourgeons par tiges (*tableau D*). Ce potentiel a varié en fonction des variétés, des dimensions du rejet ou de la tige fleurie ainsi que de la qualité du matériel de départ.

Le temps nécessaire pour obtenir la première pousse après ensemençement du fragment dans un germoir a varié en fonction du cultivar testé, French sombre présentant le temps de réponse le plus court (21 j) et 'Kelong mekuitou' le temps de latence le plus long (28 j) (*tableau D*). Il a

**Tableau I.**

Comparaison, en fonction des variétés testées, de quelques caractéristiques de l'activation de bourgeons latents obtenue par ensemençement de fragments de tige de bananier présentant un seul bourgeon latent par explant (technique des PIF) et comptage des pousses obtenues.

Variété testée	Nombre de rejets ou tiges utilisés	Nombre de bourgeons ensemençés	Potentiel de bourgeons récupérés par rejet ou tige	Temps de latence <sup>1</sup> (j)	% de pousses formées après 80 j	% de pousses sevrées par rapport au nombre de pousses formées
French clair	61	386	6,3	22	28	97
French sombre	40	599	15,0	21	66	100
Kelong mekuitou	70	272	3,9	28	21	95
Mbouroukou N° 1	25	386	15,5	25	65	100
Grande naine	30	368	12,3	23	40	98

<sup>1</sup> Temps nécessaire pour obtenir la première pousse après ensemençement de l'explant dans un germoir.

donc fallu 3 à 4 semaines pour obtenir une première pousse formée par activation d'un bourgeon latent. Ce développement a été observé sur des bourgeons présentant un renflement perceptible et une aréole bien évidente au moment de l'ensemencement, toutefois, d'autres bourgeons ayant les mêmes caractéristiques ont réagi plus tardivement.

Bien que toutes les variétés aient montré un taux intéressant de pousses formées après 80 j d'ensemencement des explants en germe, les cultivars French sombre et Mbouroukou N°1 se sont démarqués du lot avec des taux moyens de 65 % (*tableau I*). French clair (21 %) et Kelong mekuitou (28 %) ont quant à eux obtenu les taux de germination les plus bas. À ce stade de 80 j après mise en culture, la plupart des explants non germés ont cependant manifesté un début de réaction ce qui laisserait supposer qu'une manifestation visible de cette germination pourrait être observée plus tard à la surface du germe. Toutefois, (2 à 5) % des explants observés étaient alors en voie de pourrissement.

Compte tenu du taux de débourrement des bourgeons ensemencés, le nombre de pousses effectivement obtenues pour chaque cultivar a été inférieur au nombre réel de bourgeons ensemencés. Cependant, compte tenu des bons résultats observés

avec le French sombre et le Mbouroukou, le potentiel de multiplication pour un rejet donné a été de près de 10 pousses formées par rejet traité. En moyenne, 98 % des pousses développées ont été sevrées avec succès (*tableau I*).

### 3.2. Proliférations *in vivo*

#### 3.2.1. Test de prolifération *in vivo*

Lors de l'expérience testant la prolifération de pousses obtenues à partir de la mise en culture de fragments de tissus de bananier présentant plusieurs bourgeons latents par explant, les premières pousses sont apparues entre (18 et 21) j après mise en germe (*tableau II*). Alors que le bananier dessert Grande naine a présenté un taux très faible (10 %) de fragments ayant formé des pousses après 40 j de germe, la prolifération a été alors de (90 à 100) % des explants pour l'ensemble des bananiers plantains traités (*figure 7*). Une observation plus approfondie des explants en prolifération a permis de noter la présence de nombreux nodules ou bourgeons en évolution (*figure 8*). Contrairement aux résultats obtenus lors de la première expérience, les cultivars French clair et Kelong mekuitou ont présenté au cours de cette seconde expérience un très bon taux de multiplication.

**Tableau II.**

Caractérisation de la prolifération de pousses obtenues à partir de la mise en culture de fragments de tissus de bananier [base d'une pseudo-tige de petit rejet prélevé sur son pied mère en même temps qu'un morceau de corne (=tige du pied mère)]. Utilisation de la technique des PIF (plants issus de fragments de tiges). Dix explants testés par variété.

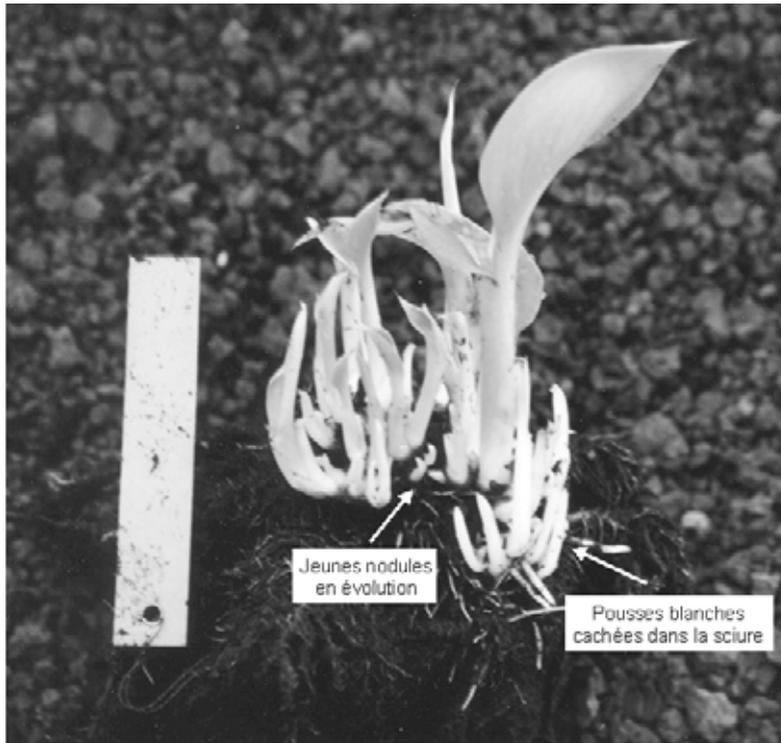
Variété testée	Temps de latence <sup>1</sup> (j)	Taux de fragments ayant formé des pousses après 40 j	Nombre de pousses formées par fragment ensemencé	Nombre de pousses sevrées par fragment ensemencé
French clair	20	90	18,1	9,2
French sombre	19	100	17,4	7,6
Kelong mekuitou	21	100	23,2	16,0
Bâtard	18	100	14,6	8,8
Mbouroukou N° 1	20	90	16,8	10,2
Grande naine	19	10	11,5	5,0

<sup>1</sup> Temps nécessaire pour obtenir la première pousse après ensemencement du fragment dans un germe.

**Figure 7.**  
Prolifération de pousses sur un explant de rejet de bananier : plus de 20 pousses présentes à 40 j (plantain 'French clair', AAB) (longueur de l'étiquette : 10 cm).



**Figure 8.**  
Prolifération de pousses à partir d'un explant de rejet de bananier. Les pousses blanches, non visibles en surface du germeur, ont été dégagées de la sciure constituant le substrat de culture (longueur de l'étiquette : 10 cm).



Plusieurs séries de sevrages ont pu être effectuées pour récupérer tous les bourgeons en croissance devenus des pousses feuillées. Chez 'Kelong mekuitou' et 'Mbouroukou N° 1', le nombre moyen de pousses obtenues à l'issue de la première phase de sevrage a été respectivement de 16 et 10 pousses par explant (*tableau II*). Lors de ce sevrage, certaines pousses présentaient 1 à 3 racines, mais d'autres en étaient dépourvues (*figure 9*). Lors des phases ultérieures de sevrage, un plus grand nombre de pousses disposaient déjà de racines.

### 3.2.2. Influence de la variété sur le potentiel de prolifération

L'étude de la réponse de deux variétés de bananier à la technique de multiplication rapide dite technique des « PIF » a montré que le nombre moyen de pousses formées par explant était significativement plus élevé chez French clair (environ 18 pousses) que chez Bâtard (environ 12 pousses) (*tableau III*). Cependant, ces deux cultivars ont présenté une forte variabilité quant à ce paramètre : coefficient de variation de 57 % chez Bâtard et de 43 % chez French clair.

Une analyse plus approfondie a révélé que la répartition des explants en fonction de classes présentant un nombre donné de pousses produites en première phase de sevrage avait été variable selon le cultivar considéré (*figure 10*). Lors de cette phase, 30 % environ des explants de Bâtard et 40 % des explants de French clair avaient formé entre 10 et 15 pousses. De même, en moyenne 30 % d'explants de ces deux cultivars avaient formé entre (16 et 21) pousses. Globalement, la plupart des explants des deux cultivars ont permis de produire chacun entre (10 et 20) pousses, mais les scores ont été différents selon le type de bananier : près de 70 % des explants chez French clair et 60 % chez Bâtard. Par ailleurs, dans 13 % des explants observés, French clair a permis d'obtenir de (28 à 36) pousses par explants, alors que Bâtard a formé au maximum 25 pousses par explant. Le potentiel de prolifération du cultivar French clair est donc significativement meilleur que celui de Bâtard.

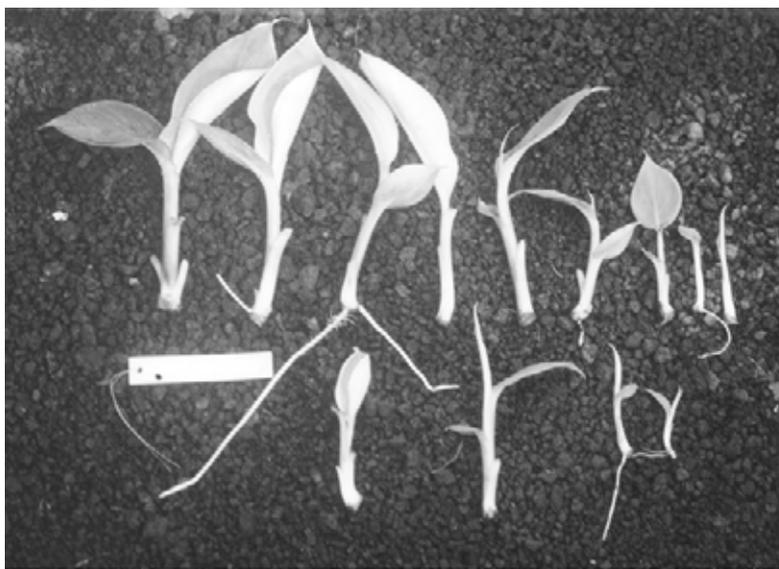
### 3.2.3. Caractérisation des paramètres abiotiques du germoir

En 1997, tous les paramètres de température et d'hygrométrie mesurés au niveau du germoir et à l'extérieur, sur la station de météorologie du centre de recherche, ont montré que les valeurs les plus élevées étaient enregistrées au niveau du germoir.

La température ambiante dans l'enceinte de multiplication du germoir a pu atteindre en moyenne 7 °C de plus que celle enregistrées dans les conditions extérieures. La température minimale hebdomadaire moyenne a été de 30 °C, avec des valeurs maximales avoisinant 34 °C. La moyenne des températures minimales du substrat du germoir a été de 24 °C, soit (2 et 4) °C de plus que la température du sol extérieur (station de météorologie).

Pendant les périodes pluvieuses, surtout entre juillet et septembre, des baisses de température ont été observées à la fois au niveau du germoir et du poste météorologique, la température ambiante du germoir étant cependant toujours plus chaude que celle extérieure. En période sèche, des augmentations de (6 à 8) °C ont été enregistrées et, en période pluvieuse, elles ont été de (4 à 6) °C.

Au cours de la période d'étude, hygrométrie relative est rarement descendue en dessous de 80 % dans le germoir alors qu'elle



**Figure 9.** Sevrage des pousses feuillées lors de la micropropagation du bananier : séparation de leur explant d'origine (longueur de l'étiquette : 10 cm).

a présenté des fluctuations plus importantes au niveau du poste météorologique.

Ces observations faites en 1997 ont été confirmées par des enregistrements de température et d'hygrométrie comparés entre le germoir et l'extérieur, effectués en 1998 (figure 11).

Compte tenu des résultats intéressants obtenus, l'hygrométrie et les températures moyennes observées dans le germoir nous semblent adéquates pour la production de plants par la technique des PIF dans notre contexte d'expérimentation.

**Tableau III.**

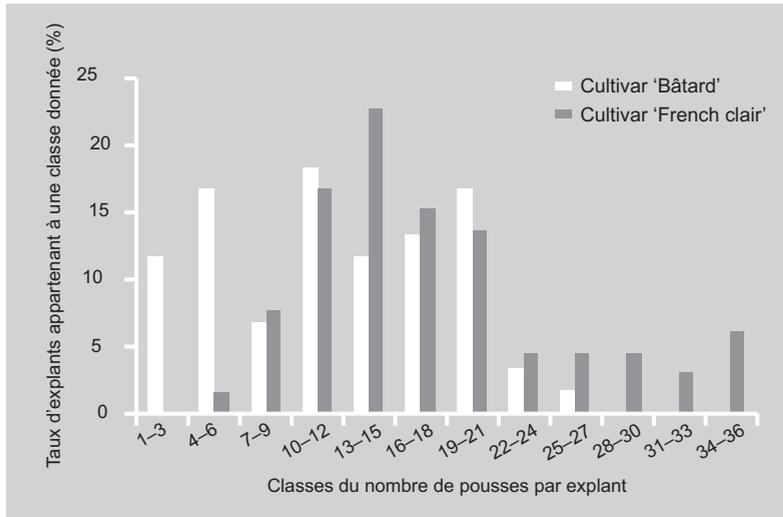
Évaluation de la réponse de deux variétés de bananier à la technique de multiplication rapide dite technique des « PIF » (plants issus de fragments de tige).

Variété testée	Nombre d'explants ensemencés	Pousses formées par explant		Temps de latence <sup>2</sup> (i)	Temps pour obtenir 90 % de germination (j)	Temps jusqu'au 1 <sup>er</sup> sevrage <sup>3</sup> (j)	Nombre maximum de pousses observées lors du 1 <sup>er</sup> sevrage
		Nombre moyen <sup>1</sup>	Coefficient de variation (%)				
French clair	66	17,6 a	43	20 à 25	30 à 45	10 à 20	36
Bâtard	60	11,8 b	57	17 à 20	30 à 40	10 à 20	26

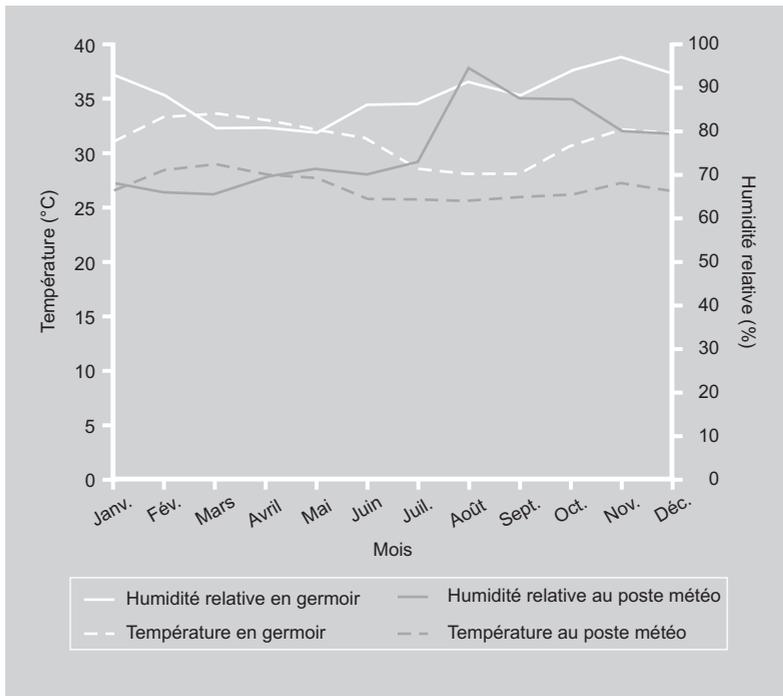
<sup>1</sup> Séparation des moyennes faite par le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %.

<sup>2</sup> Temps nécessaire pour obtenir la première pousse après ensemencement du fragment dans un germoir. Prise en compte des variations entre les blocs.

<sup>3</sup> Nombre de jours entre l'apparition de la première pousse et l'obtention du premier sevrage.



**Figure 10.** Répartition des classes de pousses formées à partir d'explants de rejets mis à proliférer en germoir *in vivo* par utilisation de la technique « plants issus de fragments de tiges » (PIF), pour deux variétés de bananiers testées.



**Figure 11.** Variations de la température et de l'hygrométrie moyenne sur poste météo et dans un germoir utilisé pour la multiplication du bananier par la technique des « plants issus de fragments de tiges » (PIF) (Njombé, Cameroun, 1998).

## 4. Discussion

### 4.1. Activation des bourgeons latents

L'étude de l'activation de bourgeons latents ensemencés individuellement à la suite du prélèvement d'un fragment minimal de tige a montré qu'il est possible de récupérer une fraction importante du potentiel de bourgeons présents sur une tige de bananier en les prélevant et en les cultivant dans des conditions particulières. En effet, suite aux travaux de Kwa [17], nous savons que même de très petits bourgeons ayant une aréole de (1 à 2) mm de diamètre peuvent déjà contenir 2 à 5 écailles et/ou ébauches foliaires avec un méristème bien individualisé ayant un plastochrone régulier. Toutefois, les inhibitions par le pied mère limitent très souvent l'évolution de ces bourgeons qui restent soit en état de développement très ralenti, soit alors complètement bloqués dans leur croissance. Le détachement de ces bourgeons de la tige mère est un premier moyen de lever leur inhibition, mais leur culture dans un milieu confiné chaud et humide apparaît comme une condition nécessaire pour permettre une nouvelle expression des méristèmes concernés.

La variété et l'état physiologique du rejet ou de la tige fleurie sur lesquels les bourgeons sont prélevés peuvent aussi influencer son développement ultérieur. Les faibles taux de réponse obtenus avec les cultivars Kelong mekuitou et French clair pourraient ainsi s'expliquer par un état quelque peu défectueux du matériel de départ (attaques de charançons sur le matériel soumis au parage), qui aurait limité leur potentiel physiologique. Néanmoins, ces considérations n'expliquent pas le fait que (30 à 60) % des bourgeons ensemencés n'aient pas réagi chez les autres variétés. Le cas de la Grande naine permet d'évoquer surtout l'effet variétal, ce cultivar ayant présenté un faible taux de débourrement des bourgeons malgré un très bon état du matériel végétal de départ. Cependant, le fait que beaucoup de bourgeons non germés aient été encore sains à la fin de l'expérimentation permettrait de supposer l'existence d'une réaction différée

de ces derniers, qui serait à relier avec l'état intrinsèque de ces bourgeons au moment de la mise en germe. Des travaux [12] sur la multiplication sur souche décortiquée ont montré que les tiges fleuries réagissaient mieux que les tiges non fleuries, d'où l'importance que peut avoir l'état physiologique des plants dans les potentialités de multiplication.

Nous avons par ailleurs démontré que chaque bourgeon sur la tige d'un bananier se trouvait à un stade de développement morphogénétique et de fonctionnement physiologique qui lui conférait des aptitudes propres, celles-ci étant déterminantes sur l'évolution ultérieure du bourgeon [17]. Ces acquis interviendraient donc, dans une certaine mesure, dans l'expression lente ou rapide des bourgeons ensemencés. Ces notions d'âge des bourgeons et de l'importance des états physiologiques traduisent des influences hormonales sur les sites naturels des bourgeons et, en conséquence, sur leur développement comme le montrent les travaux de Devos [18] sur la position des bourgeons sur la tige. Nos observations nous permettent ainsi de noter que « les inhibitions maternelles des bourgeons ne sont levées que progressivement », même pour des bourgeons isolés. En effet, plusieurs bourgeons non germés à la surface du germe à 80 j après ensemencement ont été trouvés en état d'évolution lente. Le potentiel de bourgeons d'une tige de bananier plantain pourrait donc nécessiter, dans certains cas, plus de 90 j pour être entièrement récupéré par la technique des PIF. Une étude sur l'incidence de la position du bourgeon sur son aptitude au débourrement pourrait permettre d'obtenir de précieuses informations sur la réactivité des bourgeons isolés dans le cadre de l'utilisation de cette technique.

#### 4.2. Proliférations *in vivo*

Les nombreuses proliférations obtenues *in vivo* à partir de fragments prélevés sur différentes variétés montrent qu'il est possible de multiplier en masse les bananiers en général et les plantains en particulier avec des techniques simples, différentes de celles plus élaborées utilisées pour la culture

*in vitro* (CIV). Le matériel obtenu présente alors de nombreuses similitudes avec les produits issus de la CIV : aspect du plant, touffes de prolifération, système racinaire abondant, absence de parasites, etc. Ces analogies peuvent s'expliquer par le mode de préparation de l'explant et par le conditionnement lié au milieu de culture. Comme pour la CIV où le méristème apical de l'explant assaini est sectionné au scalpel avant mise en culture, en culture horticole *in vivo* (CHV), les opérations de parage et de décortiquage s'achèvent par l'application de deux incisions croisées dans le méristème central de l'explant. Ces opérations, qui induisent un stress au matériel végétal, sont nécessaires pour permettre la mise en place d'une forme de prolifération (figure 7) développée sur cal au cœur de l'explant mis en germe. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par différents auteurs sur des explants cultivés *in vitro* [19–22], etc. En effet, l'incision en croix du méristème central de l'explant constitue un facteur déterminant pour le déclenchement des premières proliférations observées sur les fragments de plantain mis en culture *in vivo*. En même temps que ces proliférations, des bourgeons axillaires du « site 1 » [17] encore non visibles réagissent et se transforment rapidement en pousses, accroissant ainsi la touffe de plantules observées sur la tige d'un explant traité par la technique des PIF (figure 12). Toutefois, si ces opérations sont



**Figure 12.** Touffe de pousses de bananier en prolifération à la suite de l'ensemencement d'un explant de rejet du cultivar 'Bâtard' (plantain AAB).

importantes, elles ne peuvent être efficaces que dans des conditions de culture appropriées. La température et l'humidité doivent être adéquates, c'est-à-dire élevées. Nos résultats confirment les observations de Navarro-Mastache [23] qui a montré l'importance des conditions de culture *in vitro* pour la croissance et le développement des plants, notamment en ce qui concerne la régulation de la température, de l'hygrométrie et des échanges gazeux dans les conteneurs utilisés *in vitro*. L'effet de serre créé dans le cas de la CHV permet donc d'obtenir des résultats similaires, mais dans un cadre simplifié et sans adjonction d'hormones.

#### 4.3. Influence de la variété

L'étude de la réponse variétale de cultivars de bananiers à la technique des PIF a montré que tous les cultivars ne réagissaient pas de la même façon. Ainsi la variété Grande naine (banane dessert AAA) a semblé moins apte à proliférer *in vivo* que les cultivars plantains (AAB) testés. Ce comportement est différent de celui observé *in vitro* avec les cultivars du groupe génomique AAA pour lesquels le taux de multiplication est généralement plus élevé que pour les cultivars possédant un gène B [24]. Toutefois, cette réponse pourrait aussi signifier que la technique des PIF que nous avons utilisée mériterait d'être adaptée au conditionnement de la Grande naine afin d'en améliorer la réponse. Cependant, il faudrait être prudent à ce stade car d'importantes variations intra-variétales ont également été observées, qui pourraient être une conséquence de niveaux d'inhibition variables des rejets par le pied mère, le fait de l'absence du calibrage des explants utilisés ou le résultat d'une mauvaise incision de l'explant. Des études sur ces points devraient permettre de déterminer l'influence de la grosseur ou du poids de l'explant sur son aptitude à la prolifération. Néanmoins, le fait d'avoir quelques 13 % d'explants pouvant produire plus d'une trentaine de pousses chez certaines variétés laisserait supposer qu'il devrait être possible d'améliorer le taux de prolifération des explants dans nos con-

ditions de culture. La qualité du matériel végétal traité pour prolifération et une meilleure précision de l'incision pourraient représenter quelques voies supplémentaires à explorer pour une meilleure prolifération *in vivo*.

#### 4.4. Délais de production des plantules

Les délais de production de plants multipliés par CHV ont été plus courts que ceux observés par CIV. En effet, en (20 à 30) j de CHV, de nombreuses pousses aptes au sevrage ont été obtenues tandis que (3 à 6) mois sont nécessaires en CIV pour obtenir le même résultat. Ces courts délais sont particulièrement intéressants car, non seulement la CHV utilise des produits simples, peu coûteux (sciure, polyéthylène, etc.) et accessibles aux petits producteurs (*figure 13*), mais elle permet aussi de réduire le temps de production de matériel végétal qui est obtenu avec un rapport qualité/prix très intéressant. En revanche, la CIV nécessite davantage de produits (hormones, milieu de culture, etc.) et d'énergie (électricité), d'où des moyens financiers importants qui ne sont pas toujours disponibles pour les petits producteurs.

Dans les expériences que nous avons conduites, plusieurs phases de sevrage ont été réalisées à partir d'un même explant pendant une période de (2 à 3) mois selon le cultivar testé. Au-delà de ces délais, les explants de base ont commencé à dégénérer empêchant toutes nouvelles proliférations. Il se pose dès lors le problème de savoir s'il serait ou non opportun de tenter de prolonger la durée de prolifération des explants par d'autres procédés à développer ou de limiter cette durée compte tenu des risques d'apparition de variants par ailleurs observés avec la CIV. Il convient de noter que, jusqu'à présent, les plants obtenus par la technique des PIF dans ces délais de (2 à 3) mois ont présenté un taux de conformité au champ de l'ordre de (98 à 100) %.

## 5. Conclusion

La technique d'obtention de plants issus de fragments de tige (PIF) appliquée au bananier constitue une voie nouvelle de production de masse de plants sains du fait de l'induction *in vivo* de la prolifération et de l'activation de bourgeons latents. Cette technique est rapide, demande peu d'investissements et est transférable en petites plantations. Sa réussite nécessite un germoir (figure 13), une préparation adéquate de l'explant, la création d'un effet de serre ainsi que la construction d'une ombrière. Il est alors possible de produire en (2,5 à 3,5) mois de jeunes bananiers prêts à être plantés. Plusieurs variétés de plantain ont répondu positivement à cette technique ; en moyenne (10 à 20) plants par explant ont pu être obtenus. La technique des PIF devrait toutefois pouvoir être encore affinée, notamment par un meilleur choix de l'explant à prélever, de son poids et de son état physiologique, et par la mise au point d'un meilleur contrôle du nombre de cycles de proliférations *in vivo*. Des travaux en cours devraient permettre de répondre à terme à ces différentes préoccupations.

## Références

- [1] Dantas J.L., Bananeira: propagacao rápida traz vantagens, Lavoura (Brazil) 93 (1990) 36–37.
- [2] Perez L., Comparación de varios métodos de propagación en banano, in: Contreras M.M.A., Guzmán Chaves J.A., Carrasco L.R. (Eds.), Mem. X reun., ACORBAT 91, ACORBAT, San José, Costa Rica, 1994, pp. 15–25.
- [3] Souza A. da S., Protocolo de micropropagacao de bananeira através de ápices caulinares, CNPMF, Cruz das Almas, Brazil, 1994, 2 p.
- [4] Alvard D., Cote F., Teisson C., Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation, Plant Cell Tiss. Org. 32 (1993) 55–60.
- [5] Panis B.J., de Smet K., Dhed'a D., Swennen R., Cammue B.P.A., The use of embryogenic *Musa* suspension cultures in biotechnology, Banan. Newsl. (Australia) 15 (1992) 45–46.
- [6] Dhed'a D., Dumortier F., Panis B., Vuylsteke D., de Langhe E., Plant regeneration in cell suspension cultures of the cooking banana cv. 'Bluggoe' (*Musa* spp., ABB group), Fruits 46 (4) (1991) 125–135.
- [7] Adelaja B.A., Rapid on-farm multiplication technique for plantain and banana, Musafrika 8 (1995) 6.
- [8] Grisales López F., Rapid technique for plantain multiplication in Colombia, Infomusa 3 (2) (1994) 7.
- [9] Godinho F. de P., Mudaz de bananeira: tecnologia de producao, EPAMIG, Belo Horizonte, Brazil, 1994, 44 p.
- [10] Kwa M., Étude des techniques de multiplication du matériel végétal *in vivo*, in: Rapport technique 1996–1997, Doc. Interne, CRBP, Njombé, Cameroun, 1998, pp. 96–100.
- [11] Munoz C., Vargas H., Evaluación de la metodología de "multiplicación rápida" en plátano (*Musa* AAB), Corbana (Costa Rica) 21 (46) (1996) 141–144.
- [12] Noupaja P., Study of three field multiplication techniques for generating planting material of *in vitro* propagated plantain (*Musa* cvs. AAB), Musafrika 12 (8) (1995) 7–8.
- [13] Anonymous, Split-corm technique: appropriate technology for rapid multiplication of plantain sucker, Crops Research Institute (CRI), Kumasi (GHA) Musafrika (6) (1995/03) 1–2.
- [14] Bonte E., Verdonck R., Grégoire L., La multiplication rapide du bananier et du plantain au Cameroun, Tropicultura 13 (3) (1995) 109–116.
- [15] Auboiron E., La multiplication sur souche décortiquée, Fiche technique, CARBAP, Njombé, Cameroun, 1997, 4 p.
- [16] Kwa M., Le matériel de plantation : base d'une dynamique des productions bananières durables, in: Picq C., Fouré E., Frison E.A. (Eds.), Les productions bananières : un enjeu économique majeur pour la sécurité



**Figure 13.**  
Construction d'un germoir avec des matériaux disponibles localement en milieu paysan.

- alimentaire, INIBAP, Symp. Int., Douala, Cameroun, 1998.
- [17] Kwa M., Architecture, morphogenèse et anatomie de quelques cultivars de bananiers, thèse, USTL, Montpellier, France, 1993, 287 p.
- [18] Devos P., The location of lateral buds of banana (*Musa* sp.) clarified by the discovery of two new types of adventitious buds within the AAB plantain group, *Fruits* 40 (7-8) (1985) 471-474.
- [19] Vuylsteke D.R., Shoot-tip culture for propagation, conservation, and distribution of *Musa* germplasm, IITA, Ibadan, Nigeria, 1998, 73 p.
- [20] Domergue R., Contribution à l'amélioration de la micropropagation du bananier plantain, Mém. DESS, Montpellier II, France, 1990, 63 p.
- [21] Cote F., Alvard D., Domergue R., Navarro-Mastache L.C., Teisson C., Micropropagation *in vitro* du bananier, *Fruits* 45 (numér. spéc.) (1990) 112-118.
- [22] Vessey J.C., Rivera J.A., Meristem culture of bananas, *Turrialba* 31 (1981) 162-163.
- [23] Navarro Mastache L.C., Incidence des facteurs de croissance *in vitro* sur le transfert des plants de bananiers cv. Petite Naine, mém. DEA, INP-Ensap, Toulouse, France, 1987, 102 p.
- [24] Hirimburregama K., Gamage N., Cultivar specificity with respect to *in vitro* micropropagation of *Musa* spp. (banana and plantain), *J. Hortic. Sci.* 72 (2) (1997) 205-211.

### Activación de yemas latentes y utilización de fragmentos de tallo de banano para la propagación masiva de plantas en condiciones hortícolas *in vivo*.

**Resumen — Introducción.** Las técnicas de multiplicación *in vitro* de bananos sanos no están adaptadas a los campesinos. Por otra parte, la utilización de técnicas de vivero *in vivo* permite incrementar la tasa de multiplicación de bananos en el campo, pero se corre el riesgo de multiplicar el material contaminado y perder numerosas yemas presentes en la planta madre. Para paliar estos problemas, hemos puesto a punto en el CARBAP (Camerún) una nueva técnica de multiplicación masiva *in vivo*, la técnica de “plantas procedentes de fragmentos de tallo” (PPF) que permite activar yemas latentes y producir rápidamente, fuera del suelo, cantidades importantes de material de siembra sano. **Materiales y métodos.** Se efectuó una primera experiencia para activar las yemas latentes. Se extrajeron unos explantes con yemas del tallo de tres variedades de plátano (AAB) y de una variedad de banano (AAA), posteriormente se sembraron en un germinador. Mediante una segunda experiencia se probaron las capacidades de proliferación de algunos bananos. En los explantes obtenidos a partir de hijuelos de banano ‘Gran Enana’ (AAA) y de cuatro cultivares de plátano (AAB) se practicaron incisiones en cruz antes de colocarlos en el germinador. Se midió el tiempo necesario para la aparición de los primeros brotes, la tasa de desborre, el número de brotes formados y separados, y la duración de formación de los brotes hasta su separación. **Resultados.** Tras la primera experiencia, las yemas recuperadas 80 d después de la siembra de los explantes representaron 4 a 15 veces el número de plantas madre utilizado. Este número, sin embargo, varió con la variedad, el estado fisiológico y la calidad del material inicial. Ocurrió lo mismo con el tiempo de respuesta comprendido entre (3 y 4) semanas y con la tasa de desborre de las yemas. Tras la segunda experiencia, se obtuvieron porcentajes de proliferación promedio de (10 a 20) brotes por explante en 30 a 40 d en el (60 al 70)% de los explantes de plátanos. Durante este mismo período, se observó un máximo de 25 brotes por explante en Bâtard mientras que French clair pudo producir, en un 13% de los casos, entre 28 y 36 brotes por explante. **Conclusión.** La técnica de PPT permite inducir *in vivo* una activa proliferación de yemas en fragmentos de tallos de banano en condiciones particulares de temperatura e higrimetría y sin añadir hormonas. Es una técnica fácilmente utilizable por los cultivadores.

**Camerún / *Musa* (bananos) / *Musa* (plátanos) / propagación de plantas / micropropagación / cultivo de meristemas / cultivo sin tierra / brotes**