

La collection mondiale du bananier (*Musa* spp.) au Centre de Transit de l'INIBAP à la K.U.Leuven : stratégies de conservation et mode d'opération

Ines Van den houwe, Rony Swennen

INIBAP Transit Centre. Laboratory of Tropical Crop Improvement. K.U.Leuven. Kardinaal Mercierlaan, 92. B-3001 Heverlee (Belgique).

La conservation et le transfert international des ressources génétiques du genre *Musa* constituent l'activité de base du Réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain (International Network for the Improvement of Banana and Plantain, INIBAP). Dans ce but, l'INIBAP a établi un Centre de Transit (ITC) au sein du Laboratoire d'amélioration des cultures tropicales de la Katholieke Universiteit Leuven, en Belgique, qui n'est pas un pays producteur de bananes. Du matériel végétal du monde entier y est mis en dépôt. Cette collection mondiale de ressources génétiques de bananiers et plantains, contenant environ 1 100 accessions, est mise sous les auspices de la FAO. Il s'agit d'une collection active, conservée *in vitro* dans des conditions de croissance ralentie (éclairage faible et basse température). Pour sauvegarder le matériel à long terme, des protocoles de cryoconservation ont été mis au point. Des échantillons de clones testés à l'égard des virus sont disponibles gratuitement et sur simple demande auprès de la banque de gènes de l'ITC. Depuis 1985, plus de 5 000 échantillons d'accessions diverses ont été distribués dans le monde entier à des tiers intéressés, pour des recherches spécifiques, l'amélioration et l'évaluation, et la production. Une entrave majeure à l'utilisation efficace de cette collection de *Musa* est le peu d'information disponible sur les ressources génétiques qui sont conservées. Grâce au Système d'information sur les ressources génétiques de *Musa* de l'INIBAP (MGIS), les données de passeport, de caractérisation et d'évaluation des collections existant dans le monde sont en cours de rassemblement pour mettre en valeur les connaissances sur la diversité des *Musa*, pour rationaliser la conservation de ceux-ci et en améliorer l'utilisation par les conservateurs, les améliorateurs et les chercheurs.

Mots-clés. *Musa*, banane, banque de gènes, culture *in vitro*, croissance ralentie, cryoconservation, Belgique.

The world collection of *Musa* germplasm in the INIBAP Transit Centre at the Catholic University of Leuven: conservation strategies and mode of operation. The conservation and international transfer of *Musa* germplasm is a core activity of the International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP). To this end, INIBAP established a Transit Centre (ITC) at the Laboratory of Tropical Crop Improvement of K.U.Leuven in Belgium, a non banana producing country. Plant material from all over the world is deposited at ITC. This global collection of banana and plantain germplasm, comprising approximately 1 100 accessions, is held under the auspices of FAO. The *in vitro* active collection is stored under slow growth conditions (low illumination and reduced temperature). In order to safeguard the material for the long term, cryopreservation protocols for banana meristems have been developed. Samples of virus-tested clones are available freely and at no cost from the ITC gene bank on request. Since 1985, over 5 000 samples of accessions have been distributed worldwide to interested parties for specific research, breeding and evaluation, and production. A major constraint for the efficient use of the *Musa* collection is the limited information available on the genetic resources maintained. Through INIBAP's *Musa* Germplasm Information System (MGIS), passport, characterization and evaluation data on existing collections worldwide are being assembled to enhance the knowledge on *Musa* diversity, rationalize conservation and improve the use by curators, breeders and scientists.

Keywords. *Musa*, banana, gene banks, *in vitro* culture, slow growth, cryoconservation, Belgium.

IMPORTANCE ÉCONOMIQUE, ORIGINE ET UTILISATION DU BANANIER

La banane constitue un aliment de base dans le monde. En effet, après le riz, le blé et le lait, la banane occupe la quatrième place dans l'alimentation humaine. Pour 600 millions de personnes, la banane est la source principale d'énergie quotidienne, tandis

que pour 400 autres millions de personnes, la banane est un supplément alimentaire non négligeable. En Afrique occidentale, par exemple, 25 % des hydrates de carbone proviennent de la banane, tandis qu'en Afrique orientale et en particulier dans les pays des Grands Lacs (Ouganda, Rwanda, Burundi, Est du Zaïre, etc.), la consommation annuelle se situe entre 200 et 400 kg par personne. À l'heure actuelle, la

production mondiale est estimée à 84 millions de tonnes (FAO, 1995). Seulement 11 % de la production est exportée.

Le bananier est originaire de l'Asie du sud-est, particulièrement de la région située entre l'Inde et les îles du Pacifique. Par l'intermédiaire des migrations indo-malaises, certains groupes du bananier sont arrivés en Afrique. De l'Afrique, les bananes et plantains ont été amenés en Amérique latine par les Espagnols et les Portugais. En Afrique, dans les régions des Grands Lacs, on retrouve surtout les bananiers de haute altitude, qui produisent des bananes à cuire ou à bière. En Afrique centrale et occidentale, on rencontre principalement des bananes plantains. Ces deux régions sont maintenant considérées comme des centres de variation secondaire, vu que la variation y est nettement supérieure à celle de la région d'origine en Asie.

Ces trois types de bananes ne sont pas consommées crues : la banane à cuire est cuite dans l'eau bouillante, la banane à bière est fermentée pour servir de boisson, tandis que la banane plantain est cuite à l'eau ou frite à l'huile. La banane à dessert est consommée crue car la plupart de l'amidon s'y transforme en sucre pendant la maturation. Elle est cultivée dans toute la zone intertropicale, mais elle est surtout exportée d'Amérique latine. Dans cette dernière région, on cultive aussi les plantains. Tandis que le petit paysan cultive plusieurs variétés simultanément (parfois jusque 15 variétés) en combinaison avec d'autres cultures vivrières, la banane d'exportation est cultivée en monoculture. Malgré la grande variabilité génétique, l'exportation repose sur à peu près cinq variétés.

PROBLÈMES PHYTOSANITAIRES

La culture du bananier est menacée par diverses maladies fongiques, bactériennes et virales, et par des ravageurs tels que des insectes et nématodes.

Le "black Sigatoka" (ou cercosporiose noire) et la maladie de Panama sont les plus importantes maladies du bananier. La première, qui est causée par un champignon, le *Mycosphaerella fijiensis*, est tout-à-fait dévastatrice. Le pathogène attaque les feuilles du bananier, sur lesquelles il forme des mouchetures brunes, qui forment en grandissant des lésions nécrotiques (**Photo 1**). La maladie peut causer des pertes de 30 à 70 % (Mobambo *et al.*, 1993). Elle a été signalée pour la première fois en 1963 aux îles Fidji, d'où elle s'est répandue dans le Pacifique et en Asie. Dans les années 1970, le "black Sigatoka" a été identifié en Amérique latine et a commencé à gagner certaines régions d'Afrique. Les variétés de bananiers les plus communément cultivées sont sensibles, de

même que toutes les variétés de plantains. Cette maladie est distincte de la "Sigatoka disease" classique (ou cercosporiose jaune), causée par le *Mycosphaerella musicola*, maladie omniprésente depuis longtemps dans toute l'aire de culture du bananier, aux symptômes assez proches de ceux causés par le *M. fijiensis* mais dépassée en agressivité par ce dernier ; pour la différencier de la nouvelle venue, elle est maintenant appelée "yellow Sigatoka".

Une autre maladie très répandue et extrêmement destructrice est la maladie de Panama, causée par un champignon transmissible par le sol, le *Fusarium oxysporium* f. sp. *cubense*. Le pathogène bloque le système vasculaire des plantes, induisant de la sorte le flétrissement et la mort de l'hôte. La race 1 a détruit la variété commerciale Gros Michel et a suscité son remplacement, dans les années 1960, par des types de la variété Cavendish, qui est résistante. La Cavendish, qui est la variété d'exportation actuelle, est toutefois devenue sensible à une nouvelle race (la race 4) de la maladie de Panama.

Le flétrissement bactérien, ou maladie de Moko, est causé par la bactérie *Pseudomonas solanacearum*, qui est transmise par le sol, l'eau, les insectes visitant les fleurs, et les outils. Le problème est grave en Amérique tropicale et aux Philippines.

Quatre viroses principales sont signalées chez le bananier (Diekmann, Putter, 1996). La plus importante est le "bunchy top", causé par le "banana bunchy top virus" (BBTV). Ce virus se rencontre en Asie, en Australie, dans certains pays d'Afrique et



Photo 1. Feuille de bananier gravement atteinte par le *Mycosphaerella fijiensis*, agent du "black Sigatoka". La maladie est un problème majeur pour la production bananière dans le monde — *Banana leaf seriously damaged by black leaf streak / black Sigatoka disease. The disease is a major constraint to banana production around the world.*

quelques îles du Pacifique. Le BBTV est transmis par le puceron *Pentalonia nigronervosa*, et les symptômes de la maladie consistent en nanisme, inhibition de la croissance et retardement ou même absence de floraison. Dans les cas extrêmes, la présence du virus peut mener à la perte totale de la plante. Une deuxième maladie virale est la striure du bananier, ou "banana streak", causée par le "banana streak virus" (BSV), qui est un badnavirus. Le virus est transmis de manière semi-persistante par une cochenille, le *Planococcus citri*. Le BSV est actuellement le virus le plus répandu chez le bananier. Les plants atteints montrent une striure des feuilles, qui peut se transformer ultérieurement en bandes nécrotiques (Jones, Lockhart, 1993). La maladie peut réduire la croissance et la vigueur de la plante, ainsi que la taille des régimes. La troisième maladie à virus attaquant le bananier est la mosaïque du concombre, produite par le "cucumis mosaic cucumovirus" (CMV). Le virus est transmis de façon non-persistante par des pucerons et occasionne la mosaïque du bananier ou chlorose infectieuse. La maladie est distribuée mondialement mais n'est pas considérée comme un problème majeur pour le genre *Musa*. Les jeunes plantes infectées par le CMV peuvent rester rabougries, et le rendement peut être réduit, mais la maladie ne provoque généralement pas de pertes importantes. Quand les plantes sont infectées à un stade de croissance avancé, les symptômes varient d'une légère mosaïque chlorotique à une grave déformation des feuilles. Le quatrième virus du bananier est le "banana bract mosaic virus" (BBMV), qui est transmis par pucerons et dont l'aire d'extension est strictement limitée aux Philippines, à l'Inde et au Sri Lanka. Les symptômes consistent en stries foncées sur les bractées des bourgeons floraux mâles, et en stries foncées ou en mosaïque sur la pseudo-tige du bananier. Des pertes allant jusqu'à 40 % ont été signalées aux Philippines (Thomas, Magnaye, 1996).

MÉTHODES DE CONSERVATION

Une large gamme de méthodes complémentaires pour la conservation *in situ* et *ex situ* est disponible, avec des avantages et inconvénients spécifiques pour chacune.

La conservation *in situ* consiste à maintenir une espèce parmi des populations sauvages. Pour le genre *Musa*, cela nécessiterait la protection d'un écosystème naturel couvrant les aires d'origine et de diversité où les espèces ont co-évolué avec leurs principaux pathogènes. Ce type de conservation est important dans le cadre d'un effort de conservation global vu qu'il permet la conservation des espèces dans un système dynamique, qui ne peut être réalisée par

aucune autre méthode. La conservation *in situ* est particulièrement intéressante pour des espèces apparentées sauvages qui peuvent être utilisées en amélioration des plantes (Sharrock, Engels, 1997). Dans l'ensemble du monde, plus de 70 collections *ex situ* de *Musa*, principalement des collections en champs et *in vitro*, ont été répertoriées par l'International Board for Plant Genetic Resources, IBPGR, devenu maintenant IPGRI (Bettencourt *et al.*, 1992). La conservation génétique au moyen de semences est possible mais uniquement pour les bananiers sauvages car les bananiers cultivés sont stériles et ne produisent pas de graines. Il s'agit d'une solution de remplacement aux banques génétiques en champs, qui est peu coûteuse ; la germination lente et erratique des semences est toutefois un obstacle à son application courante. Lorsque la teneur en humidité des graines de *Musa* est réduite à 10 %, elles peuvent être conservées pendant près d'un an (Chin, 1995).

Jusque dans les années 1970, le seul moyen de conservation *ex situ* de formes cultivées était les banques de gènes en champs, où le matériel est maintenu sous la forme végétative. Les collections en champs jouent un rôle essentiel dans la caractérisation et l'évaluation des ressources phylogénétiques mais elles présentent également un certain nombre de problèmes. Elles sont très vulnérables aux maladies, aux ravageurs et aux conditions météorologiques adverses. Comme les bananiers et les plantains sont des plantes herbacées pérennes géantes, ils occupent une place considérable. Ils doivent aussi être transplantés périodiquement, ce qui demande de vastes superficies de terres, beaucoup de main-d'œuvre et une gestion soigneuse. De plus, la fourniture d'échantillons à partir d'une banque de gènes en champs implique le risque de diffuser des maladies et consomme beaucoup de temps, vu le faible taux de multiplication en champ (**Tableau 1**).

Étant donné ces inconvénients, les collections *in vitro* doivent être considérées comme un complément précieux. Le risque de perte de matériel génétique *in vitro* est beaucoup plus faible, la méthode permet la conservation dans un espace minimal et avec moins de manipulations et d'intrants, et les cultures sont à l'abri de nouvelles contaminations par des ravageurs et des maladies, en ce compris les virus (**Tableau 1**). Grâce à la technique *in vitro*, les demandes de plants peuvent être satisfaites facilement et rapidement. Dans les conditions appropriées (croissance ralentie), la durée de stockage des cultures de méristèmes apicaux de *Musa* (qui ont une taille de 5 à 10 mm) peut s'étendre jusqu'à un an environ, ce qui réduit la fréquence des interventions. Le repiquage d'une collection *in vitro* demande néanmoins toujours beaucoup de travail et fait courir le risque de perdre un matériel génétique précieux à la suite d'une erreur

Tableau 1. Caractéristiques opérationnelles pour la conservation de 1 000 accessions de bananier dans différentes conditions — *Operational characteristics for the storage of 1 000 banana accessions under different conditions* (Source : Panis, 1995).

	Conditions de conservation			
	Collection en champ	Collection <i>in vitro</i>		Cryoconservation
		Croissance normale	Croissance ralentie	
Effectif/accession	5 plantes	20 cultures	20 cultures	millions de cellules (1)
Aire occupée	30.000 m ²	15 m ²	15 m ²	2 m ²
Personnel/an	6	9	1,5 à 2	< 0,5
Température	+25 à +30°C	+28°C	+15°C	-196°C
Risque de perte de matériel	élevé	moyen	faible	nul
Risque de maladies et ravageurs	élevé	nul	nul	nul
Risque d'erreur humaine	modéré	modéré	faible	très faible
Maintenance	replantation après 3-5 ans, fumure et pesticides, désherbage	6 repiquages par an	1 repiquage par an	0 repiquage, rajout de N liquide

(1) Dans le cas de la cryoconservation de méristèmes, l'effectif par accession dépend de la fréquence de régénération après décongélation.

humaine ou d'une négligence (contamination des cultures, préparation des milieux de culture, erreur d'étiquetage). Un obstacle majeur à l'utilisation des cultures de tissus pour la conservation génétique est l'apparition de variations somaclonales (Scowcroft, 1984). De telles variations peuvent être utiles en tant que sources de variations pour l'amélioration, mais elles constituent aussi à vrai dire une menace pour la conservation de génotypes bien précis. L'étendue du problème varie selon le génotype, le système et les conditions de culture ainsi que la durée de celle-ci (Scowcroft, 1984).

La cryoconservation dans l'azote liquide à -196°C paraît être la seule option valable pour garantir l'intégrité génétique du matériel sur une longue période, vu que la division cellulaire et les processus métaboliques sont totalement arrêtés à cette température extrêmement basse. La méthode requiert également très peu de place, nécessite très peu d'entretien et protège le matériel des contaminations (Tableau 1).

LA BANQUE DE GÈNES DU GENRE *MUSA* AU CENTRE DE TRANSIT DE L'INIBAP : MODE OPÉRATOIRE

Établissement de la collection *in vitro*

En 1985, l'International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP) a établi au Laboratoire d'amélioration des cultures tropicales de la Katholieke Universiteit Leuven, en Belgique, son

Centre de Transit (ITC), destiné à servir de banque de gènes et de lien intermédiaire pour le transfert d'espèces de *Musa*. Une collection active *in vitro* d'accessions de bananiers et de plantains y est maintenue sous la forme de cultures de méristèmes apicaux dans des conditions de croissance ralentie (Photo 2).

Le matériel conservé dans la banque de gènes de l'ITC a été obtenu grâce à des dons de collections génétiques existantes, d'améliorateurs et de particuliers du monde entier (Tableau 2). La collection comporte 75 % de variétés paysannes ("landraces"), 15 % d'espèces sauvages apparentées et 10 % de cultivars avancés. Plus de 150 accessions de plantains (AAB) ont été introduites de la collection de l'IITA (International Institute of Tropical Agriculture) en 1985-1988. En 1987, un nombre important d'accessions (39) de bananiers d'altitude d'Afrique de l'est (groupe AAA, sous-groupe Lujugira/Mutika) a été mis en dépôt par l'IRAZ (Institut de Recherche Agronomique et Zootechnique de la Communauté Économique des Pays des Grands Lacs), Burundi. En 1987-1990, un large assortiment d'espèces sauvages et de formes cultivées a été fourni par la FHIA (Fundación Hondurana de Investigación Agrícola), Honduras, et le CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement), Guadeloupe.

Des expéditions de collecte organisées par l'INIBAP en collaboration avec l'IPGRI et avec des membres du réseau dans les centres d'origine et de diversité du genre *Musa* ont permis de compléter la collection avec de nouveaux spécimens sauvages et des cultivars locaux inconnus. Au cours des années,



Photo 2. Cultures de tissus en prolifération d'environ 1 100 accessions du genre *Musa*, conservées sous des conditions de croissance ralentie au Centre de Transit de l'INIBAP, K.U.Leuven, Belgique — *Proliferating tissue cultures of approximately 1 100 Musa accessions stored under slow growth conditions at the INIBAP Transit Centre, K.U.Leuven, Belgium.*

des expéditions de collecte ont ainsi eu lieu en Papouasie-Nouvelle Guinée, au Vietnam, dans l'est de l'Indonésie et le sud de la Chine. Dans le cadre de quatre missions coopératives IPGRI-QDPI en Papouasie-Nouvelle Guinée, environ 300 accessions, et en particulier quelques diploïdes rares AA, ont été collectées en 1987-1989 (Sharrock, 1990) et dupliquées *in vitro* à l'ITC. La collection comprend à présent environ 1 100 accessions, couvrant la plupart de la diversité trouvée à l'intérieur du genre *Musa*.

Indexage phytosanitaire

Les cultures de méristèmes apicaux sont indemnes d'insectes, de nématodes et de microorganismes exogènes, étant donné que la surface des explants est désinfectée avant la mise en culture. Toutefois, les virus et certains contaminants endogènes sont

capables de transiter par les cultures *in vitro* sans expression de symptômes sur les tissus végétaux ou de signes visibles dans le milieu de culture.

Dans la perspective d'une conservation à long terme d'un matériel végétal important du point de vue génétique, d'échanges internationaux exempts de risques et de l'usage de cultures *in vitro* en biotechnologie, des méthodes de détection fiables en combinaison avec des techniques adéquates pour éliminer les maladies, sont essentielles pour garantir un haut niveau de sécurité phytosanitaire du matériel.

Le contrôle et l'élimination de bactéries endogènes sont réalisés lorsque les explants sont dérivés d'une plante originelle peu susceptible d'héberger des microorganismes, ou lorsqu'on utilise une méthode appropriée de culture de tissus, c'est-à-dire la culture de méristèmes. L'asepsie des explants doit néanmoins être testée.

À l'ITC, le matériel végétal introduit dans la banque de gènes est testé pour la présence de bactéries endogènes après désinfection superficielle et lors des subcultures (Van den houwe *et al.*, sous presse). Avant qu'un méristème apical soit placé sur son milieu de culture, la base en est d'abord frottée sur un milieu de croissance bactériologique, c'est-à-dire sur un agar nutritif additionné de 1 % de glucose et de 0,5 % d'extrait de levure. Les boîtes de Petri ayant servi au frottis sont incubées à 28°C, et la croissance éventuelle de colonies est vérifiée après une et six semaines. Jusqu'à présent, 513 accessions ont subi ce test, démontrant la présence de bactéries dans 23 clones.

Les introductions à l'ITC sont aussi vérifiées systématiquement pour la présence de virus. Dans ce but, un unique méristème apical est utilisé pour la mise en culture du matériel végétal d'une nouvelle accession. Ensuite, un seul méristème néo-formé est prélevé de la culture de départ pour produire une série de sept cultures. Cinq de ces cultures sont utilisées pour régénérer des plantules et les expédier à l'indexage virologique. Les deux autres cultures sont conservées à l'ITC pour multiplication ultérieure, conservation subséquente à moyen terme et distribution. Actuellement, 50 % de la collection est disponible pour la distribution internationale.

Les tests d'indexage sont effectués dans un des trois Centres d'Indexage Virologique (VIC) de l'INIBAP, situés respectivement au CIRAD en France, au QDPI (Queensland Department of Primary Industries) en Australie, et au TBRI (Taiwan Banana Research Department) à Taiwan. Les VIC suivent les méthodes d'indexage Virologique décrites dans les "FAO/IPGRI Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm" (Diekmann, Putter, 1996). Les plantes sont élevées sous abri à moustiquaires pendant six mois, observées régulièrement et testées

Tableau 2. Nombre d'accessions introduites dans la banque de gènes du Centre de Transit de l'INIBAP — *Number of accessions imported into the INIBAP Transit Centre gene bank.*

	1976-1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Total	%
Amérique	0	2	2	5	53	66	42	48	10	2	12	14	14	8	0	278	21
Afrique occidentale et centrale	5	15	23	51	35	41	0	26	11	0	11	0	0	8	0	226	17
Afrique orientale	0	0	0	7	54	0	0	0	4	0	1	1	0	4	0	71	05
Asie et Pacifique	6	0	0	5	6	21	67	257	27	0	15	1	1	10	41	457	35
Europe	5	0	2	1	30	22	112	37	24	12	14	3	2	0	2	266	20
Total	16	17	27	69	178	150	221	368	76	14	53	19	17	30	43	1298	

pour les virus. Le CMV et le BBTV peuvent être détectés de façon fiable au moyen de kits de test sérologique ELISA, mais pour le BSV et le BBMV, il faut recourir à l'ISEM, Immunosorbent Electron Microscopy (**Tableau 3**).

Les clones trouvés porteurs de virus ou de particules viroïdes sont conservés en collection en attendant la mise au point de techniques thérapeutiques efficaces pour l'élimination des virus. En 1996, un projet de recherche INIBAP financé par l'AGCD (Administration générale pour la Coopération au Développement, Belgique) a démarré à la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux, avec l'objectif de mettre au point des méthodes d'élimination des virus du bananier et du plantain.

Conservation à moyen terme

La collection de bananiers de l'ITC est gardée *in vitro* dans les conditions de conservation à moyen terme. La croissance ralentie des cultures de méristèmes apicaux de bananiers est obtenue en réduisant la température et l'intensité lumineuse. La température ambiante de la chambre de stockage est maintenue à $16 \pm 1^\circ\text{C}$ et l'intensité lumineuse à $25 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Toutes les cultures de la banque de gènes sont conservées sur le même milieu semi-solide de Murashige et Skoog modifié (Murashige, Skoog, 1962), additionné de 30 g.l^{-1} de sucrose, de $0,175 \text{ mg.l}^{-1}$ d'acide 3-indolacétique (IAA) et de $2,25 \text{ mg.l}^{-1}$ de 6-benzyladénine (BA). Cette concentration relativement élevée de BA est nécessaire pour lever la dormance apicale afin de favoriser la prolifération de pousses et de réduire le taux de croissance.

Dans ces conditions, la durée de conservation atteint presque un an (334 jours) en moyenne, alors

que l'intervalle de repiquage est de 2 à 3 mois dans les conditions normales de croissance (28°C et $64 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). De grandes différences dans l'intervalle de repiquage, allant de 3 à 22 mois, ont toutefois été constatées entre les différents (sous-)groupes génomiques et même à l'intérieur du même sous-groupe. En général, les bananiers cultivés peuvent être conservés plus longtemps que les espèces sauvages apparentées. En particulier, les bananiers d'altitude est-africains AAA et les bananiers non-plantains AAB peuvent être conservés de façon significativement plus longue que tout autre génotype dans les mêmes conditions. Certaines accessions AAB peuvent être conservées jusque 615 jours. Les types sauvages, en particulier les accessions de *Musa balbisiana* (BB), sont les plus difficiles à conserver, vu qu'ils doivent être repiqués tous les 275 jours en moyenne (Van den houwe *et al.*, 1995). Les variétés largement cultivées de Cavendish AAA peuvent être conservées durant 313 jours en moyenne.

Chaque accession entre dans la chambre de stockage en 20 exemplaires, après 2 à 3 semaines d'incubation sous des conditions de croissance normales. Pendant le cycle de conservation, les cultures sont surveillées du point de vue de la viabilité et de la contamination microbienne. Les cultures non conformes sont immédiatement éliminées. Si le nombre de cultures tombe à 12 exemplaires, le clone est toujours repiqué pour des raisons de sécurité. On sait que la variation somaclonale existe dans les cultures de méristèmes apicaux de bananiers (Israeli *et al.*, 1991) et de plantains (Vuylsteke *et al.*, 1991), mais elle n'est pas mesurée systématiquement à cause du manque de méthodes standards pour la détection *in vitro* de variations somaclonales.

À titre de sécurité, la collection unique en son genre de l'ITC est en cours de duplication. Environ

Tableau 3. Directives techniques IPGRI/INIBAP pour la sécurité de transfert de matériel génétique de *Musa* — IPGRI/INIBAP Technical guidelines for the safe movement of *Musa* germplasm.

Cultures dont est issu le matériel à indexer	7
Plantes envoyées aux VIC (1) pour indexage	5
Plantes soumises à l'indexage phytosanitaire	4
Plantes pour multiplication ultérieure	2 à 20
Durée d'indexage	6 mois
Détection BBTV	OV / ELISA (2)
Détection CMV	OV / ELISA
Détection BSV	OV / ME / ISEM / ELISA
Détection BBMV	OV / ISEM / ELISA
Détection de virus non caractérisés	OV / ME

(1) VIC : “Virus Indexing Centres” de l'INIBAP.

(2) ELISA : après 3 et 6 mois de croissance, pour autant que l'antisérum soit disponible et le protocole mis au point ; ISEM (Immunosorbent electron microscopy) : microscopie électronique utilisant l'immuno-adsorption, après 3 et 6 mois de croissance ; ME : microscopie électronique de préparations purifiées partiellement, après 3 et 6 mois de croissance ; OV : observation visuelle, après 3 et 6 mois de croissance.

50 % des accessions sont dupliquées au TBRI, Taiwan, et au CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza), Costa Rica. Pour chaque accession, 20 exemplaires *in vitro* sont maintenus dans les mêmes conditions de conservation à moyen terme que celles appliquées à l'ITC. La duplication à destination de l'Afrique doit encore être mise en route.

Conservation à long terme

Pour assurer la conservation à long terme du matériel génétique, un protocole de cryoconservation a été établi au Laboratoire d'amélioration des cultures tropicales. La technique implique de cultiver des méristèmes en prolifération sur un milieu MS contenant 22,5 mg.l⁻¹ de BA et 0,175 mg.l⁻¹ d'IAA. Ensuite, des amas de minuscules méristèmes sont excisés et pré-cultivés sur un milieu normal de prolifération – c'est-à-dire avec 2,25 mg.l⁻¹ de BA au lieu de 22,5 mg.l⁻¹ de BA – additionné de 0,3–0,5 M de sucrose, pendant trois semaines. Des bouquets survivants de 4 à 6 méristèmes sont prélevés et sont rapidement surgelés dans de l'azote liquide (-196°C). Après surgélation, les amas de tissus méristématiques sont dégelés rapidement pendant 1,5 minutes dans un bain d'eau à 40°C et transférés sur un milieu normal de prolifération pour relancer la croissance (**Photo 3**). La viabilité observée après décongélation varie de 12 à 72 % selon le cultivar (Panis *et al.*, 1996). À ce jour, 17 accessions de la collection, appartenant à cinq groupes génomiques, ont été soumises avec succès à

ce protocole de surgélation. Une recherche complémentaire d'affinement de la méthode est en cours afin d'augmenter les taux de réussite pour une large gamme de génotypes.

ÉCHANGE ET UTILISATION DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

Le matériel génétique testé au point de vue virologique dans la banque de gènes est directement disponible pour la recherche fondamentale et appliquée, l'amélioration, le travail d'évaluation et la production vivrière. Depuis 1985, quand le Centre de Transit est devenu opérationnel, plus de 5 000 échantillons ont été diffusés auprès d'utilisateurs dans plus de 50 pays du monde entier (**Tableau 4**). L'ITC fournit des cultures de méristèmes apicaux en prolifération pour multiplication ultérieure, ou des plantules *in vitro*, emballées aseptiquement dans des sacs en polyéthylène et pouvant être transplantées directement en terre (**Photo 4**). Pour être certain que le matériel végétal diffusé reste dans le domaine public, les destinataires de matériel génétique de *Musa* mis sous les auspices de la FAO sont priés de souscrire à l'“Accord de transfert de matériel FAO/INIBAP”, qui engage le demandeur à ne prétendre ni à la propriété de ce matériel ni à des droits de propriété intellectuelle au sujet de ce matériel.

La distribution d'accessions par l'ITC est gratuite, raison pour laquelle le nombre de cultures par



Photo 3. Boîte de Petri contenant des méristèmes apicaux de la variété Bluggoe (groupe ABB), huit semaines après cryoconservation. Les méristèmes ont été préalablement mis en culture sur sucrose 0,5 M — *Petri dish containing unfrozen (left) and frozen (right) shoot tips of Bluggoe (ABB group), eight weeks after cryopreservation. Meristems were precultured on 0.5 M sucrose.*

Tableau 4. Nombre d'accessions exportées de la banque de gènes du Centre de transit de l'INIBAP — *Number of accessions exported from the INIBAP Transit Centre gene bank.*

	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Total	%
Amérique	0	0	13	127	88	111	68	61	99	155	183	261	78	1244	24
Afrique occidentale et centrale	20	27	154	105	109	54	79	0	24	158	41	55	37	863	17
Afrique orientale	0	0	0	105	69	42	21	48	66	19	93	27	63	553	11
Asie et Pacifique	12	0	3	5	48	68	50	83	75	154	436	71	88	1093	21
Europe	0	0	10	14	34	122	112	104	179	119	183	247	292	1407	27
Total	32	27	180	356	348	397	321	296	443	605	936	661	558	5160	

accessions est limité à cinq. De façon à satisfaire le nombre croissant de demandes pour de plus grandes quantités de matériel testé à l'égard des virus, des centres régionaux de multiplication et de distribution ont été mis sur pied. Le CRBP (Centre Régional du Bananier et Plantain) au Cameroun et le CATIE au Costa Rica reçoivent chaque année des échantillons d'un nombre limité de clones ITC testés virologiquement. Le matériel végétal y est alors soumis à une multiplication massive pour distribution aux NARS (National Agricultural Research Systems) et aux agriculteurs de leur région, soit l'Afrique centrale et occidentale d'une part, et l'Amérique centrale et du Sud d'autre part.

CARACTÉRISATION ET ÉVALUATION DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

Une caractérisation, évaluation et documentation adéquates des accessions ainsi qu'un accès aisé à l'information sont essentiels pour permettre l'utilisation optimale d'une collection. La majeure partie de la diversité du genre *Musa* est présumément représentée dans les nombreuses collections en champs existantes, mais le manque d'information précise sur chaque accession conservée dans ces collections est un sérieux obstacle à leur utilisation efficace. Beaucoup de collections de *Musa*, y compris la collection de l'ITC, n'ont pas été caractérisées systé-

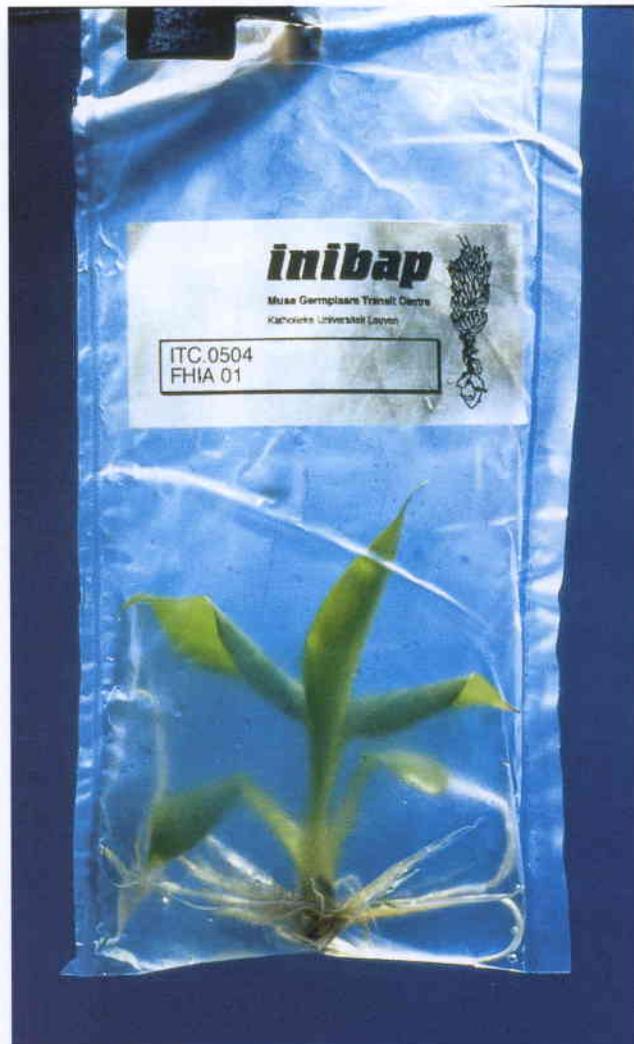


Photo 4. Plantule *in vitro* enracinée, emballée pour expédition — *In vitro* rooted plantlet packed for shipping.

matiquement. Par exemple, dans la collection de l'ITC, seules 258 accessions ont été jusqu'à présent entièrement caractérisées et évaluées pour leurs caractéristiques agronomiques et leur résistance aux maladies. Ces données ont été publiées dans un catalogue, le "Musalogue", en 1997. Pour la plupart des clones toutefois, un nombre restreint de données de caractérisation et d'évaluation sont seules disponibles, et celles-ci sont de surcroît dispersées parmi de nombreuses collections en champs nationales et régionales ou parmi les institutions qui leur sont associées.

La caractérisation des espèces de *Musa* est ordinairement effectuée en utilisant des descripteurs traditionnels (IPGRI-INIBAP/CIRAD, 1996), mais une certaine caractérisation a également été accomplie à l'aide de marqueurs moléculaires, tant par RFLP que par RAPD (Howell *et al.*, 1994).

Des informations sur la résistance aux maladies et sur les performances agronomiques des hybrides améliorés et du matériel génétique naturel sont produites systématiquement par le Programme international d'essais du bananier de l'INIBAP (International *Musa* Testing Program, IMTP), soutenu par le PNUD, Programme des Nations Unies pour le Développement (Jones, 1994). Pendant la première phase de ce programme, sept hybrides du programme d'amélioration de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola, FHIA, ont été multipliés à l'ITC et distribués dans six sites écologiquement différents dans le monde pour une évaluation de leur résistance ou tolérance à la maladie du "black Sigatoka". A la suite de ceci, trois hybrides témoignant d'une bonne résistance, les FHIA 01, 02 et 03, ont été recommandés pour une évaluation plus poussée par les NARS et pour distribution aux agriculteurs. Ces hybrides ont depuis lors été disséminés par l'ITC dans plus de 50 sites dans le monde. Une deuxième phase, de plus grande ampleur, a été lancée en 1993, comprenant l'évaluation d'hybrides issus de quatre programmes d'amélioration, menés respectivement par l'EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) au Brésil, l'INIVIT (Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales) à Cuba, la FHIA au Honduras et le TBRI à Taiwan. Cette évaluation concerne au premier plan la résistance au "black Sigatoka", au "yellow Sigatoka" et au flétrissement fusarien. Ces nouvelles variétés, fournies de nouveau par l'ITC, sont en évaluation sur 37 sites, dans 19 pays. Entre-temps, une troisième phase de l'IMTP a été mise sur rails, qui comprendra également l'évaluation de la résistance aux nématodes de nouveaux hybrides améliorés (INIBAP, 1997).

Au début des années 1990, l'INIBAP a jeté les fondements d'un système d'information pour le genre *Musa*. Le but du MGIS (*Musa* Germplasm Information System) est de compiler les données de passeport, de caractérisation et d'évaluation dans les collections existantes pour mettre en valeur les connaissances sur la diversité chez le genre *Musa*, de rationaliser la conservation, et d'améliorer la gestion et l'utilisation des ressources génétiques du bananier. L'information disponible dans la banque de gènes de l'ITC et dans les banques de gènes nationales et régionales, ainsi que l'information produite par les programmes d'évaluation nationaux et internationaux – comme l'IMTP – et d'autres, sera rassemblée dans une base de donnée MGIS mondiale. L'information relative à l'identité, l'origine, les caractéristiques (caractères agronomiques, résistance aux maladies, tolérance aux stress, marqueurs biochimiques ou moléculaires) ainsi qu'à la répartition des accessions sera accessible aux parties intéressées.

De plus, les données de passeport et de caractérisation de toutes les accessions de l'ITC seront incluses dans la base de données SINGER (System-wide Information Network for Genetic Resources) du CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research), qui est accessible via Internet (<http://www.cgiar.org/singer>). Ce réseau relie les bases de données de ressources génétiques de l'ensemble des centres de recherches du CGIAR.

Bibliographie

- Bettencourt E, Hazekamp T, Perry MC (1992). "Directory of germplasm collections. 6.I Tropical and Subtropical Fruits and Tree Nuts. Annona, avocado, banana and plantain, breadfruit, cashew, citrus, date, fig, guava, mango, passionfruit, papaya, pineapple and others", pp. 1-337. International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), Rome.
- Chin HF (1995). Germination and storage of banana seeds. In "New Frontiers in Resistance Breeding for Nematode, Fusarium and Sigatoka", Proceedings of an International Banana Breeding Workshop, MARDI/INIBAP, Serdang, Selangor, Malaysia, 2-5 Oct. 1995, pp. 218-227.
- Diekmann M, Putter CAJ (1996). "Musa" (2nd edition). FAO/IPGRI Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm, n° 15, pp. 1-26. FAO, Rome/International Plant Genetic Resources Institute, IPGRI, Rome.
- FAO (1995). "Production Year Book 1995", pp. 1-291. FAO, Rome.
- Howell EC, Newbury HJ, Swennen R, Withers LA, Ford-Lloyd BV (1994). The use of RAPD for identifying and classifying *Musa* germplasm. *Genome* 37, 328-332.
- INIBAP (1997). "Networking Banana and Plantain: INIBAP Annual Report 1996", pp. 1-60. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France.
- IPGRI-INIBAP/CIRAD (1996). "Descripteurs pour le bananier (*Musa* spp.)", pp. 1-55. International Plant Genetic Resources Institute, Rome/International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France/Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Montpellier, France.
- Israeli Y, Reuveni O, Lahav E (1991). Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques. *Sci. Hortic.* 48, 71-88.
- Jones DR (1994). "The improvement and testing of *Musa*: a global partnership". Proceedings of the First Global Conference of the International Musa Testing Program held at FHIA, Honduras, 27-30 April 1994, pp. 1-303.
- Jones DR, Lockhart BEL (1993). "Banana Streak Disease". *Musa Disease Fact Sheet n° 1*. International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP), Montpellier, France.
- Mobambo KN, Gauhl F, Vuylsteke D, Ortiz R, Pasberg-Gauhl C, Swennen R (1993). Yield losses in plantain from black Sigatoka leaf spot and field performance of resistant hybrids. *Field Crops Res.* 35, 35-42.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- Panis B (1995). "Cryopreservation of banana (*Musa* spp.) germplasm", pp. 1-201. Dissertationes de Agricultura 272, Catholic University of Leuven, Belgium.
- Panis B, Totté N, Van Nimmen K, Withers LA, Swennen R (1996). Cryopreservation of banana (*Musa* spp.) meristem cultures after preculture on sucrose. *Plant Sci.* 121, 95-106.
- Scowcroft WR (1984). "Genetic variability in tissue culture: impact on germplasm conservation and utilization". International Board for Plant Genetic Resources (IPGRI), Rome.
- Sharrock S (1990). Collecting missions in Papua New Guinea. In "Musa conservation and documentation", Proceedings of a workshop held in Leuven, Belgium, 11-14 Dec. 1989, pp. 57-58. INIBAP/IBPGR, Rome.
- Sharrock S, Engels J. (1997). Focus Paper I: Complementary conservation. In "Networking Banana and Plantain: INIBAP Annual Report 1996", pp.1-60. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France.
- Thomas JE, Magnaye LV (1996). "Banana Bract Mosaic Disease". *Musa Disease Fact Sheet n° 7*. International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP), Montpellier, France.
- Van den houwe I, De Smet K, Tezenas du Montcel H, Swennen R (1995). Variability in storage potential of banana shoot cultures under medium term storage conditions. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 42, 269-274.
- Van den houwe I, Guns J, Swennen R. Bacterial contamination in *Musa* shoot tip cultures. *Acta Hort.* : sous presse.
- Vuylsteke D, Swennen R, De Langhe E (1991). Somaclonal variation in plantain (*Musa* spp., AAB group) derived from shoot-tip culture. *Fruits* 46, 429-439.

(21 réf.)