

Effets des différentes balances hormonales sur la micropropagation du Cv. Hybride FHIA-01 (*Musa sp.*)

K.M. Mazinga¹, M. Van Koninckxloo², M. Godoy Jara² & L. Baboy Longanza³

Keywords: Banana- *Musa sp.*- Cytokinine- Endogenous- Genotype- Cultivars- D.R. Congo

Résumé

Différentes balances hormonales ont été évaluées afin de proposer un milieu de prolifération permettant de multiplier efficacement l'hybride FHIA-01 en culture in vitro. Les principaux résultats obtenus sont: l'inhibition presque complète de la prolifération par la BAP; l'inhibition totale de l'enracinement par la concentration de 10 µM BAP+10 µM MemTR, l'amélioration de la prolifération moyenne de 5,4 bourgeons/explant de l'hybride FHIA-01 par l'ajout au milieu de culture de cette même concentration. L'ajout de MemTR explique l'efficacité de la balance hormonale sur la prolifération de bourgeons. Pour parvenir à ce même résultats, en se servant de l'AIA comme source auxinique, il faut un apport d'au moins de 1 µM/l. Dans cette étude, on est parvenu à choisir un certain nombre de facteurs liés aux conditions d'expérimentation; tel que la lumière et l'obscurité qui semblent être nécessaires à l'organogenèse de FHIA-01. La culture devrait être placée 15 jours à l'obscurité et 15 jours à la lumière.

Summary

Effects of Different Hormonal Balances on the Micropropagation of Cv. Hybrid FHIA-01 (*Musa sp.*)

Different hormonal balances were evaluated to develop a growth medium to effectively multiply the FHIA-01 hybrid in vitro. The most striking results of this study are: the almost complete inhibition of the shoot proliferation by BAP; the total root inhibition by the concentration 10 µM BAP+10 µM MemTR and the improvement of the mean shoot proliferation (5,4 shoots/explants) by adding the same concentration. Adding MemTR improves the hormonal balance for the proliferation of shoots of FHIA-01. At least 1 µM of IAA is needed as auxin source, to reach the same result. In this study, we identified some factors related to the experimental conditions, such as light and darkness that seemed to be necessary for the organogenesis of FHIA-01. The cultures had to be placed 15 days in darkness and 15 days in light conditions.

Introduction

Beaucoup de cultivars de *Musa* sont multipliés par organogenèse directe à partir de bourgeons axillaires ou méristèmes apicaux en culture *in vitro* (22). Cette technique a permis la propagation en grand nombre des différentes variétés de bananier et de plantain, permettant de multiplier et de distribuer à grande échelle des plants sains, exemptes de toute maladie, (12). Aujourd'hui, on sait que le génotype a une influence sur l'efficacité de la propagation *in vitro*. Il est donc nécessaire, lorsque de nouvelles variétés ou des clones hybrides sont introduits dans les programmes de production, d'adapter les techniques de micro propagation (4). Afza et collaborateurs ont remarqués des différences considérables entre

clones quant à la formation et la prolifération de bourgeons. Ceci semble être corrélé à la présence d'un ou deux génomes B (1).

Habituellement, deux types de régulateurs de croissance, une cytokinine (BA) et une auxine (AIA), sont ajoutés au milieu de culture du bananier (8, 21). La balance hormonale détermine la croissance et la morphogenèse de l'explant. Plusieurs auteurs ont régulièrement ajouté 2,25 mg/l de N6-benzyladénine (BA) et 0,175 mg/l indole-3-acétique acide (IAA) au milieu d'initiation de pousses et de multiplication (21). Par exemple, la propagation *in vitro* de l'hybride FHIA-20 (AAAB) se révèle difficile. En effet, on observe le développement des plantes enracinées pendant la phase d'initiation. Au cours de la phase de

¹ Université de Lubumbashi, Laboratoire de culture *in vitro* des plantes, Lubumbashi.

² Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl). Enseignement supérieur de la Province de Hainaut, Ath, Belgique.

³ Université de Lubumbashi, Faculté des Sciences Agronomiques, Lubumbashi, RD Congo, & Université Libre de Bruxelles, Service d'Écologie du Paysage et Systèmes de Production Végétale, Bruxelles, Belgique.

* Auteur correspondant: michelmaz2003@yahoo.fr.

Reçu le 10.04.12 et accepté pour publication le 26.03.13.

multiplication, apparaissent des structures bulbeuses de couleur blanche qui ne se différencient pas en plantules (10). Cette situation est similaire à celle de l'hybride FHIA-01 (AAAB), où l'on observe un manque total de formation de bourgeons durant la phase de multiplication. Au contraire, une rhizogène importante et précoce apparaît quelle que soit la dose appliquée d'acide N6-benzyladénine. La N6-(3-hydroxy benzyladénine), connue sous le nom de métatopoline (mT), a été utilisée avec différentes plantes pour induire la prolifération de bourgeons axillaires (13), son utilisation pour la culture de tissus de *Musa* a été rapportée sur les cultivars 'Williams et Grand Naine' (*Musa* spp. AAA) (3) et par Roels et collaborateurs, pour la micropropagation de plantain dans un système à immersion temporaire (18).

FHIA-01 est particulièrement intéressant pour sa résistance à la cercosporiose. *Mycosphaerella fijiensis* Morelet agent pathogène de la cercosporiose possède un potentiel élevé d'adaptation à des conditions nouvelles de climat, aux différents fongicides utilisés et aux divers génotypes de *Musa*. La résistance de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet aux produits tels que les benzimidazoles et les triazoles a été largement démontré par la perte d'efficacité dans la lutte chimique dans les bananeraies (7).

En plus, l'hybride FHIA-01 présente un excellent potentiel de productivité. Il produit un rendement élevé même dans des conditions défavorables, et notamment en cas de sécheresse (9, 17) Dans cette étude, nous avons évalué les différentes balances hormonales afin de proposer un milieu de culture permettant de multiplier efficacement l'hybride FHIA-01 en culture *in vitro*.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

On a choisi pour cette étude de vitroplants de l'hybride; FHIA-01 AAAB, ITC 0504 issu du croisement cv. Pome AAB et cv Prata Naine 3142 SH comme mâle, dont les fruits sont consommés comme dessert. Le choix de FHIA-01 dans cette étude ainsi que pour son introduction dans la région du Kantanga se justifie par ces performances agronomiques et phytosanitaires. Egalement, il supporte bien les fluctuations de température (5). FHIA17 AAAA, ITC 1264 est un hybride issu du croisement cv. Gros Michel AAA et Highgate 3362 SH, ce cultivar est résistant à la race 1 de la fusariose. Le cultivar ITC 1332, FHIA 21 AAAB, issu du croisement du cv. Plantain French AAAB comme

femelle/.AVP-67. 3142SH mâle. FHIA 21 est également résistant à la maladie des raies noires, et deux fois plus productif que le cv. Faux Corne mais présente une maturité précoce des fruits qui peuvent occasionner des pertes pendant la récolte et lors du transport. FHIA23, ITC. 1265, issus du croisement entre Gros Michel comme femelle à génome AAA et cv Highgate 3362SH, male. Et enfin I.C.2 AAAA.

Tous ces cultivars nous ont été fournis par le centre de transit de l'INIBAP à Leuven. Les vitroplants enracinés ont été livrés en juin 2009, au laboratoire de culture *in vitro* du CARAH où l'étude a été effectuée.

Méthode de culture

Les hybrides FHIA-01, FHIA-17, FHIA-21, FHIA-23 et I.C.2 ont été cultivés sur un milieu de culture MS (16), incluant les vitamines: glycine: 26,64µM, myo-inositol: 0,56 mM, acide nicotinique: 4,06µM, Pyridoxine HCl: 2,43µM, Thiamine HCl: 0,30µM (DUCHEFA).

Les différentes balances hormonales testées:

- 20 µM de BAP et 1 µM AIA (Indole Acétique Acide);
- 20 µM de mT (meta-topoline) et 1 µM AIA;
- 10 µM de BAP, 10 µM de MemTR et 1 µM IAA.

Chaque milieu de culture contenait 3% de saccharoses, 5 g/l d'Agar. Le pH a été ajusté à 5,8 avec du (NaOH ou KOH 1N). Le milieu de culture a été stérilisé à l'autoclave à 121°C et 1kg/cm² pendant 20 minutes. Les cultures ont été placées en chambres de croissance (Binder) 15 jours à l'obscurité et 15 jours à la lumière avec une photopériode 16 heures et à une température de 28 ±2 °C. Au total 50 répétitions par traitement ont été réalisés dans cette étude. Dans l'ensemble, on a utilisé les bocaux (350 ml) en verre dans lesquels 50 ml de milieu culture ont été garni en raison de 5 explants. Les explants avaient une taille uniforme soit 1 cm de long, environ 0,5 cm de diamètre. Les observations dans cette étude ont été réalisées sur les variables; nombre de bourgeons, taille de plantules et le nombre de racines par plantule. Une ANOVA multifactorielle a été réalisée, suivie par un test de plus petite différence significative. Sauf indication contraire, les données présentées correspondent aux moyennes des résultats. Les analyses ont été réalisées au risque de première espèce $\alpha=0,05$ au moyen du logiciel STATGRAPHICS Plus 3.0.

Résultats et discussions

Les résultats de l'analyse de la variance à deux facteurs sur la balance hormonale contenant 10 μM BAP, 10 μM MemTR, 1 μM AIA et les cultivars révèlent que celle-ci a permis d'induire la prolifération du cultivar FHIA01. Bairu et collaborateurs ont également enregistré les taux supérieurs de multiplication avec les cytokinines mT et mTR (3). L'hybride FHIA-01 a proliféré une moyenne de nombre de bourgeons de (5,4/explant) significativement élevé (Tableau 1).

Tableau 1

Effet de cytokinines BAP et de la méta-topoline sur la prolifération de bourgeons de bananier au bout de 30 jours en phase de multiplication *in vitro*.

Cytokinines	FHIA01	FHIA17	FHIA21	FHIA23	IC2	Répétitions
BAP	0,0a	2,4a	3,5a	3,4a	2,2a	50
mT	2,3c	4,9c	4,2ab	4,7ab	1,9abc	50
BAP+MemTR	5,4b	3b	3,4abc	2,5ac	2,2abc	50

Les lettres identiques dans une même colonne montrent que les résultats ne sont pas différents statistiquement ($P < 0,05\%$).

Par ailleurs, l'amélioration du taux de prolifération de l'hybride FHIA-01 observée pouvait s'expliquer par l'inhibition totale de la prolifération des racines (Tableau 2).

Tableau 2

Effet de la BAP et de la méta-topoline sur le nombre de racines par plantule au bout de 30 jours en phase de multiplication.

Cytokinines	FHIA01	FHIA17	FHIA21	FHIA23	IC2	Répétitions
BAP	2a	4,6a	3,2a	6,4a	2,8a	50
mT	2,8ab	1,7b	3,1ab	3,3b	1,8ab	50
BAP+MemTR	0,0c	2,2cb	1,8c	2,0c	1,2abc	50

Les lettres identiques dans une même colonne montrent que les résultats ne sont pas différents statistiquement ($P < 0,05\%$).

Il a été rapporté qu'en l'absence des racines, le nombre des bourgeons allongés par explant est 2 fois plus élevé que pour les plantules entières (14). Par contre, la balance hormonale contenant une concentration de 20 μM BAP et 1 μM AIA a inhibée complètement la formation des bourgeons de FHIA-01 (Tableau 1). Par ailleurs, les concentrations plus élevées de la BA ont tendance à avoir un effet négatif sur le taux de multiplication, de la morphologie et devrait donc être évitée (21). Le taux de multiplication dépend à la fois du type de cytokinine, de la concentration de cytokinine et de génotype (23). En réduisant la dose de cytokinine dans le milieu de multiplication, la différenciation de bourgeons en plantules a pu démarrer tandis que disparaissait peu à peu la croissance en rosette (10, 11). Dans nos essais aucune croissance en rosette n'a été enregistrée. (Figure 1).

Escalona et collaborateurs ont comparé, l'effet de ces deux cytokinines sur le taux de multiplication du bananier plantain 'CEMSA 3/4' (Musa cv. AAB) cultivé dans un système à immersion temporaire (8). De même, Garcia et collaborateurs ont obtenu une moyenne de 4,7 bourgeons par explant de FHIA-20 à la dose de cytokinine de 10 μM BAP au cours de la phase de multiplication (10). La concentration de 20 μM de mT (méta-topoline) a induit la prolifération de bourgeons chez l'hybride FHIA01 avec une moyenne de 2,3 bourgeons/explant par rapport à celle de 20 μM BAP (0,0 bourgeons/explant). Les résultats obtenus dans notre étude avec mT (méta-topoline), sont similaires aux résultats enregistrés par Roels et collaborateurs, prouvant l'efficacité de la méta-topoline à une concentration de 4,4 M sur la micropropagation de plantain dans un système à immersion temporaire (18).

D'après certains auteurs, l'effet stimulant de la méta-topoline sur la croissance des plantules n'est observé qu'à de très faibles concentrations. Au regard de nos résultats et les résultats d'autres auteurs, la balance hormonale (20 μM mT, 1 μM AIA) semble induire la prolifération de FHIA01, mais il faudrait diminuer la concentration de mT pour améliorer le taux de prolifération. Les résultats présentés dans cet article sont en accord avec les observations de Werbrouck et collaborateurs (23) et de Miroslav et collaborateurs (15). Ces auteurs ont montré que la méta-topoline est plus active que la BAP pour stimuler la formation de plantules. Toutefois, les cytokinines ont une certaine spécificité d'action vis-à-vis des différentes espèces végétales. Par exemple, dans le cas du châtaigner, la BAP induit la prolifération des bourgeons axillaires, alors que la kinétine n'a aucun effet sur ceux-ci; d'autre part, dans le cas de la pomme de terre, seule la kinétine induit la prolifération des pousses, alors que la BAP et la 2iP n'ont aucun effet (11).

Les résultats de notre étude montrent que l'hybride FHIA-01 présente des difficultés à la multiplication *in vitro* pour des raisons dues à l'affinité avec les cytokinines, à la balance hormonale et aux techniques culturales. On sait que l'AIA est sensible à la lumière. Son utilisation à de faibles concentrations conjuguée avec le fait de placer les cultures à la lumière, détruirait une partie de la concentration d'AIA dans le milieu de culture avec des conséquences sur la balance hormonale. La stimulation de la multiplication des pousses par la variation du type et de la concentration des régulateurs de croissance et des sources de carbone ont été rapportées par plusieurs auteurs (10).



Figure 1: La photo à gauche indique la prolifération des bourgeons obtenus à l'obscurité et droite la prolifération des bourgeons obtenus à 16 h de photopériode BAP (10 M) + MemTR (10 μ M) + AIA (1 μ M).

Les résultats particulièrement frappant de notre étude: tout d'abord est l'inhibition presque complète de la prolifération par BAP; inhibition totale de l'enracinement par BAP+MemTR+AIA, amélioration de l'expression du potentiel génétique de prolifération moyenne de 5,4 bourgeons/explant de l'hybride FHIA-01 par BAP+ MemTR+AIA. L'ajout de MemTR (méta-méthoxy topoline riboside) justifie l'efficacité de la balance hormonale sur la prolifération de bourgeons de FHIA-01. Par contre, l'ajout de 20 μ M BAP+1 μ M AIA a inhibé la formation de nouveaux bourgeons de FHIA-01. Les résultats de notre étude sur la prolifération de FHIA-01, sont en parfait accord avec d'autres auteurs qui ont relevé l'inefficacité de BAP par rapport à mT, MemTR (3), sur la multiplication du cultivar Grand Naine et le cultivar Williams (8).

Dans cette étude, la balance hormonale contenant 10 μ M BAP, 10 μ M MemTR, 1 μ M AIA a inhibée complètement l'enracinement (Tableau 2). Ces résultats sont en accord à ceux de Bairu et collaborateurs qui ont observé l'inhibition de l'enracinement de cultivars 'Williams et Grand Naine (Musa spp. AAA) avec les cytokinines mT et MemTR (3). L'AIA a souvent donné de faibles pourcentages d'enracinement, surtout quand elle est employée à de faibles concentrations, que ce soit avec le bananier, l'artichaud (2) ou avec d'autres espèces (19). D'autres auteurs ont observé l'initiation de racines latérales après l'addition de Méta-topoline (8). Les plantules cultivées avec une concentration élevée (0,5 mg/l) développent une cal basale et ne produisent pas de racines (4). Malgré la concentration élevée de cytokinines; 10 μ M BAP et 10 μ M de MemTR qui a inhibée la formation des racines de FHIA-01, dans nos essais nous n'avons pas observé la présence de cal à la base de la plantule. Une augmentation de nombre des racines, en moyenne 6,4/explant de FHIA23 à la concentration de 20 μ M BAP a été observée au cours de notre étude, malgré l'ajout de

1 μ M AIA dans le milieu de culture. Talengera et collaborateurs ont rapporté que les variétés AAA développent un enracinement précoce avec ou sans AIA sur le milieu MS enrichis avec BA (20). Cette augmentation du nombre de racines enregistrée dans notre étude pourrait être due par le fait que, les cultures ont été placées quinze jours durant à l'obscurité. Plus on augmente la concentration exogène à l'obscurité, plus on stimule l'induction de racines, moins on favorise la formation de bourgeons (11). Escalona et collaborateurs, ont montré que l'utilisation de faibles concentrations de BAP et de méta-topoline n'a pas diminué le nombre de racines par plantule (8). Dans la même logique, d'autres auteurs ont rapporté l'effet de MemTR sur l'inhibition de l'enracinement de bananier, un composé qui a favorisé l'enracinement de pousses polyphylla Aloe à des concentrations où les deux BA et mT complètement inhibaient ce processus (8).

Par ailleurs, une prolifération des racines/plantule plus élevée a été observée chez des vitroplants de pomme de terre cultivés sur un milieu de culture contenant une faible concentration de méta-topoline (4). Cependant, le nombre de racines par pousse enracinée, augmente avec l'augmentation de la concentration en auxine ANA dans le milieu de culture pour la lavande (4). Les résultats obtenus dans notre étude rejoignent ceux trouvés par Escalona et collaborateurs qui ont obtenu un pourcentage d'enracinement plus élevé avec les faibles concentrations de BAP, de méta-topoline, et l'ANA. Au cours de notre étude, mT a donné une réponse efficace à l'enracinement de vitroplants de FHIA-01. Contrairement aux résultats précédents avec topolines, obtenus par Werbrouck et collaborateurs (23) sur *Spathiphyllum* spp; Escalona et collaborateurs (8) sur le plantain et d'autres auteurs sur l'aloès, mT avait un effet inhibiteur sur l'enracinement par rapport à BA (8).

Par ailleurs, la balance hormonale (10 μM BAP, 10 μM MemTR, 1 μM AIA) a eu un effet sur la réduction de la taille des explants des cultivars FHIA17, FHIA23. (Tableau 3).

Tableau 3

Effet de la BAP et de la méta-topoline sur la taille des plantules des hybrides de bananier au bout de 30 jours en phase de multiplication.

Cytokinines	FHIA01	FHIA17	FHIA21	FHIA23	IC2	Répétitions
BAP	1,7a	2,3a	1,7a	2,1a	3,1a	50
mT	2,5b	1,9ab	2,2ab	1,5ab	1,8b	50
BAP+MemTR	1,6ac	1,3bc	2,2abc	1,4abc	1,9c	50

Les lettres identiques dans une même colonne montrent que les résultats ne sont pas différents statistiquement ($P < 0,05\%$).

Cependant que la concentration de 20 μM BAP et 1 μM AIA a augmenté la taille des explants de cultivar IC2 (3,2Cm taille moyenne). L'analyse de variance a montré des différences significatives.

La moyenne de feuilles de 3,4 a été obtenue avec FHIA-23. Les résultats présentés dans cet article sont en accord avec les observations de Escalona et collaborateurs (8), qui ont montré que des plantules de bananier prêts à être acclimatés doivent avoir les caractéristiques suivantes: elles doivent avoir une longueur supérieure à 2,5 cm, avoir plus de trois feuilles et une circonférence de plus de 0,5 cm. Nous avons observé une baisse du nombre de feuilles avec une moyenne d'une feuille par explant. L'analyse de la variance a montré des différences significatives entre les traitements.

Les objectifs de notre étude ont été atteints, puisque nous avons pu améliorer la prolifération de FHIA-01 en culture *in vitro* grâce au choix de cytokinines (BAP, MemTR et mT), avec la combinaison faite des phytohormones et les techniques de culture *in vitro* utilisées. FHIA-01 est un hybride qui a manifesté des difficultés de multiplication *in vitro* en présence de BA dans le milieu (6), (Van den Hauwe, communication orale). Notre étude a donné la première et jusqu'à maintenant la seule solution pour la multiplier *in vitro* de FHIA-01: par combinaison de BA et memTR dans le milieu. En accord avec les résultats de notre étude et les résultats de Bairu et collaborateurs qui appuient l'utilisation possible de

topolines comme une alternative à BA pour la micropropagation de Cavendish (3), nous suggérons que les cytokinines topolines (MemTR et mT) se substituent à la BAP dans la culture *in vitro* de l'hybride FHIA-01 de bananier. Cependant, nous suggérons une étude approfondie permettant d'évaluer l'impact de leur utilisation en culture *in vitro* de bananier sur la variation somaclonale.

Pour parvenir à ce même résultat, en se servant de l'AIA comme source auxinique, il faut un apport d'au moins 1 μM . Dans notre étude, nous sommes parvenu à choisir un certain nombre de facteurs liés aux conditions d'expérimentation; tel que la lumière, et l'obscurité qui semble être nécessaire à l'organogenèse de FHIA-01. La culture devrait être placée 15 jours à l'obscurité et 15 jours à la lumière.

Conclusion

Les informations ainsi que les résultats obtenus dans ces essais rendent possible l'amélioration de la prolifération en culture *in vitro* de l'hybride FHIA-01. Les balances hormonales appliquées dans cette étude permettent une augmentation de l'efficacité de la propagation. Par ailleurs, l'hybride FHIA-01 révèle une affinité à la mT. Ce qui se traduit par l'augmentation du nombre de bourgeons/explant inoculé en phase de multiplication. Cependant, lors de la phase de multiplication, il est préférable d'utiliser la balance hormonale contenant 10 μM BAP, 10 μM MemTR, 1 μM AIA dans le milieu de culture. Individualiser les explants en bourgeons bien définis qu'ils ne soient pas inférieurs à 1 cm de hauteur. La culture sera placée durant deux semaines à l'obscurité totale avant leurs séjours de quinze jours à la lumière, une photopériode de 16 h. Ainsi, on inhibe totalement la formation précoce des racines et on obtient une moyenne de 5,4 bourgeons/explant FHIA-01 (AAAB) pendant la phase de multiplication.

Remerciements

Les auteurs remercient la CUD (Commission Universitaire au Développement) et le CARAH asbl (Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la province de Hainaut) en Belgique.

Références bibliographiques

1. Afza R., Van Duren M. & Morpurgo R., 1996, Banana tissue culture and its prospective use in the developing countries, *in*: Islam AS (ed) Plant tissue. www.springerlink.com/index/606160V880U823R2.pdf
2. Ancora G., Belli-Donini M.L. & Cuzzo L., 1981, Globe artichoke plants obtained from shoot apices through rapid *in vitro* micropropagation. *Scientia Hort.*, 1(4), 207-213.
3. Bairu M.W., Stirk W.A., Doležal K. & Van Staden J., 2008,

- The role of topolins in micropropagation and somaclonal variation of banana cultivars 'Williams' and 'Grand Naine' (*Musa* spp. AAA). *Plant. Cell. Tiss. Organ Cult.*, **95**, 373-379.
4. Baroja-Fernandez E., Aguirreola H. & Martinkova J., 2002, Aromatic cytokinins in micropropagated potato plants. *Plant physiol. Biochem.*, **40**, 217-227.
 5. Dela Cruz F.S., Gueco L.S., Damasco O.P., Huelgas V.C., Banasihan I.G., Liadones R.V., Van den Bergh I. & Molina A.B., 2007, *Catalogue of introduced and local banana cultivars in the Philippines: results of a demonstration trial by the Institute of Plant Breeding*, University of the Philippines Los Baños. IPB-UPLB, Bioversity International and DA-BAR, Philippines; 8; 63 pp.
 6. Dewitte J., 2008, *Growth and micropropagation of new banana varieties adapted to the agro-ecological conditions of Lubumbashi*. Hogeschool Gent, Master thesis, 145 pp.
 7. Douglas M. & Ching L., 1992, Monitoring of sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* to Benonil, In: *CORBANA annual report*. Pp. 17-19.
 8. Escalona M., Cejas L. & Gonzalez-olemedo J., 2003, *Effet de la méta-topoline sur la prolifération du bananier plantain en bioréacteur à immersion temporaire*. Vol. **12** N° 2.
 9. FHIA., 2000, *Bananas and Plantains*. <<http://honduras.com/fhia/banana.htm>>.
 10. Garcia A., Perez-Mederos B. & Sarria Hernandez Z., 2002, *Nouvelles méthodes de propagation in vitro du cultivar hybride FHIA-20 Infomusa*; Vol. **11** N°1.
 11. George EF., 1993, *Plant tissue culture techniques*. In: *Plant propagation by tissue culture*. Part 1: The technology, Exegetics Ltd., Edington, Wilts, England, 3-36.
 12. Haicour R., Ducreux G. & Ambroise A., 2002, *Biotechnologies végétales : technique de laboratoire*, édition Tec & Doc. Lavoisier, p. 305, 275-295.
 13. Holub J., Hanus J., Hanke D., 1998, *Biological activity of cytoninins derived from Ortho- and M beta - Hydroxybenzyladenine*. *J. Plant Growth Regul.*, **26**,109-115.
 14. Jay-Allemand C. & Cornu D., 1986, *Culture in vitro d'embryons isolés de noyer commun (Juglans regia L.)*. INRA, Station d'amélioration des Arbres forestiers. Ardon, F 45160 Olivet. *Ann. Sci. For.*, **43**(2), 189-198.
 15. Miroslav S., Hanus J. & Vanek T., 1997, Meta-topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (*Populus* & *Canadensis* Moench., CV. Robusta). *Phytochemistry*, **45**(2), 213-218.
 16. Murashige T. & Skoog F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, **15**(3), 437-497.
 17. Orjeda G., Escalant J.-V. & Moore N., 1999, Phase II du Programme international d'évaluation des *Musa* (IMTP): synthèse du rapport final et des résultats. *INFOMUSA*, **8**(1), 35-39.
 18. Roels S., Escalona M., Cejas I., Noceda C., Rodriguez R., Canal M.J., Sandoval J. & Debergh P., 2005, Optimization of plantain (*Musa* AAB) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, **82**, 57-66.
 19. Scarpa G.M., Milia M. & Satta M., 2000, The influence of growth regulators on proliferation and rooting of *in vitro* propagated myrtle. *Plant Cell. Tissue Organ. Culture*, **62**, 175-179.
 20. Talengera D., Mangambo M.J.S. & Rubaihayo P., 1994, *Testing for a suitable culture medium for micropropagation of EAST African Highland bananas*. Department of crop Science, Makerere University, P.O. Box 7062, Kampala, Uganda, **2**(1), 17-21.
 21. 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. Culture.*, **42**, 269-274.
 22. Vasil I.K., 1987, Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grass crops, *J. Plant Physiol.* **128**, 193-218.
 23. Werbrouck S., Strnad M., Van Onckelen H. & Debergh P., 1996, Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture? *Physiol. Plant.*, **98**, 291-297.

K.W. Mazinga, Congolais, DEA Production Végétale, Ingénieur Agronome., Assistant de recherche à l'Université de Lubumbashi, Laboratoire de culture *in vitro* des plantes, Lubumbashi. R.D.C.

M. Van Koninckxloo, Belge. Docteur en Sciences Agronomiques, Directeur scientifique du Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl). Inspecteur général de l'enseignement supérieur de la Province de Hainaut, Ath, Belgique.

M. Godoy Jara, Belge, Docteur en Sciences, Maître Assistant Haute Ecole Provinciale du Hainaut Occidentale-Condorcet. Directeur du laboratoire de culture *in vitro* du centre de Recherches Centre pour l'agronomie et l'agro-industrie de la Province de Hainaut (CARAH asbl), Ath, Belgique.

L. Baboy Longanza, Belge. Docteur en Sciences Agronomiques et Ingénierie Biologique, Professeur Associé à l'Université de Lubumbashi, RD Congo. Collaborateur Scientifique à l'Université Libre de Bruxelles (Service d'Écologie du Paysage et Systèmes de Production Végétale, Bruxelles, Belgique).