

I. LAS HERRAMIENTAS MOLECULARES - LES OUTILS MOLECULAIRES

Mapping the Banana Genome

P.J.L. Lagoda
CIRAD-BIOTROP lab. AGETROP, Montpellier, France

Modern crop improvement is based on molecular marker assisted selection and introgression of agronomic traits of interest such as pest resistance or quality. Many crops are being investigated on the molecular level using improved marker systems. Tropical crops such as *Musa* are seldom, if ever, included in international genome analysis initiatives, but these crops are of paramount importance to the world for socio-economical and ecological reasons.

Musaceae are among the tallest monocotyledons and belong to the major basic food-producing plants on earth. In fact, one of the ten most important crops in the world are dessert and cooking bananas (FAO). Dessert bananas are intensively cultivated for export to Europe and North America, while cooking bananas and some dessert bananas are cultivated most often in backyard gardens for local consumption in tropical countries.

The first partial linkage map of the banana genome using molecular markers has just been published. It is the result of a highly collaborative work between numerous scientists and research assistants of different CIRAD departments (France, Montpellier, FLHOR department: H. TEZENAS-DU-MONTCEL, D. DAMBIER; GERDAT department, AGETROP laboratory: C. LANAUD, P.J.L. LAGODA, F. CARREEL, F.-C. BAURENS, J.-L. NOYER; D. GONZALEZ-DE-LEON, actually at CIMMYT, Mexico; S. FAURE, actually at GENETHON, Paris, France), outstations overseas (FLHOR outstation Guadeloupe: F. BAKRY, J.-P. HORRY, actually INIBAP), the CRBP in Cameroun (E. FOURE, C. JENNY, E. AUBOIRON) and INIBAP.

The present map is based on 82 individuals from an F2 type progeny (SF265 [AAcv] X *M.a. banksii* Banksii [AAs]), linking 90 loci (58 RFLP loci, 4 isoenzyme loci and 28 RAPD loci). 77 loci are associated in 15 linkage groups and 13 loci are segregating independently. In addition, a self-fertilised progeny, 89 individuals, from a highly fertile synthetic AA diploid (M53), displaying a BLSD resistant phenotype, is being mapped.

Although mapping the banana genome is complex due to sub-species specific translocations, comparative map analysis uncovers interesting data on genome structure (i.e. identification of translocation breakpoints) as well as on the molecular markers used. Depending on the population mapped, the same RAPD markers associate in different linkage groups whereas RFLP markers conserve colinearity. That's why exclusive use of RAPD markers for QTL mapping in bananas is risky and QTL analyses should be based on co-dominant markers. This study can be performed by RFLP, but recently developed microsatellite markers on banana proved to be more powerful yet (high abundance and polymorphism). Microsatellites may be the "anchor markers" of choice for a banana core map.

The polymorphic repeat region of microsatellite loci can easily be amplified by PCR using locus-specific flanking primers. Microsatellites are ubiquitously interspersed in eukaryotic genomes. Microsatellite polymorphism is based on a large number of alleles per microsatellite locus, which is due to a high frequency of variation in the number of repeats in different individuals or accessions.

The high level of polymorphism, combined with a high interspersion rate, makes them an abundant source of genetic markers and extensive genetic maps have been constructed on this basis for various species of the

animal and plant kingdom ranging from mouse to man and from beans to bananas. The results from these studies indicate that microsatellites in plants can be up to tenfold more variable than other marker systems such as RFLP. Microsatellites, therefore, represent a very useful genetic marker system for the genetic mapping of species with little intraspecific polymorphism. PCR-amplified microsatellite loci may provide a good alternative marker system, complementary to RFLP.

The usefulness of microsatellite derived markers is emphasised by the implication of relatively simplified laboratory techniques (PCR, non radioactive detection, no hybridisation, small genomic DNA quantity and only poor DNA quality needed, possible automation, possible transferability overseas "in situ") compared to RFLP markers. Nevertheless, development of microsatellite markers is currently limited in plants in general by the number of available published sequence data for most species. This is particularly the case for tropical crops such as banana, but an increasing number of research groups work on the molecular characterisation of these crops and there is no doubt that more DNA sequences will be available in the near future. Thus all the advantages of PCR can be taped for the genetic analysis of *Musa*.

Identification and large-scale isolation of microsatellites is best performed with a genomic library of small inserts. A partial, size fractionated, *Pst* 1 genomic library for *Musa*, previously established as a source for RFLP makers, has been re-screened with the synthetic poly(TA_AT), poly(GC_CG), poly(GA_CT) and poly(GT_CA) sequences for dinucleotide repeats according to standard colony lift/hybridisation procedures. After hybridisation, purified single positive colonies were amplified to extract plasmid DNA. The purified plasmids were sequenced according to standard procedures. Specific flanking primer pairs for PCR amplification were synthesised based on the sequence data from these clones. Thus microsatellite loci could be amplified using total genomic DNA and standard PCR protocols.

Roughly one sixth (17%) of the clones of the banana library contain at least one microsatellite site, as confirmed by sequencing. Surprisingly, the majority of dinucleotide repeats found are of the (GA)_n sequence family, the number of alleles per locus varying between 5 and 24 in a testing panel of 20 accessions representing the different sections of the *Musaceae* family. All the microsatellites detected in banana up to date are conserved in all these sections.

Our preliminary results show the efficiency of polymorphic microsatellite markers for mapping the banana genome with rapid and simple methods. Due to stream-lined and simplified laboratory protocols, interesting perspectives for clonal identification and marker assisted selection "in situ" (i.e. developing countries) are being opened up (e.g. PCR essay kits containing robust, extensively tested, microsatellite marker primer pairs).

VNDR probe	% of positive clones (total=132)	SSR consensus	n _{min}	n _{max}
(TC) ₁₀	54	(AG) _n	8	20
(AC) ₁₀	25	(TG) _n	10	21
(AT) ₁₅	14	(A) _n	14	17
		(TTA) _n	6	16
		(TA) _n TT(TTAATA) ₇	-	-
(GC) _n	7	(C) _n TT(C) _n	-	-

library	recombinant clones	average insert size (kb)	positive clones	%
<i>Pst</i> 1	765	2.7	132	17

size fractionated *Pst* 1 library, screened by VNDR probes, compound VNTR and microsatellite abundance (*) one clone sequenced

Cartographier le Génome des Bananiers

P.J.L. Lagoda

CIRAD-BIOTROP lab. AGETROP, Montpellier, France

Les méthodes modernes d'amélioration des plantes sont de plus en plus axées sur la sélection et l'introggression de caractères (p. ex. : résistances aux maladies, qualité) assistées par marqueurs moléculaires. De plus en plus de plantes vivrières sont étudiées au niveau moléculaire par des marqueurs de plus en plus puissants. Les plantes tropicales cependant, tels les bananiers et plantains, profitent peu, sinon pas du tout, des initiatives internationales d'analyse des génomes. Or ces plantes sont socio-économiquement et écologiquement d'une importance capitale pour le monde.

Les membres de la famille des *Musaceae* sont les plus grandes monocotylédones connues. Les bananiers et plantains sont répertoriés parmi les 10 plantes vivrières les plus importantes au monde (FAO). Les bananes dessert sont intensivement cultivées dans la zone intertropicale pour l'exportation vers l'Europe et l'Amérique du Nord. Les bananes à cuire, et quelques bananes dessert, sont localement cultivées pour l'autoconsommation par de petits et moyens producteurs dans les pays tropicaux.

La première carte génétique partielle du bananier, fondée sur des marqueurs moléculaires, vient d'être publiée. C'est le résultat d'une collaboration entre nombre de chercheurs et agents de différents départements du CIRAD métropolitain (Montpellier, département FLHOR: H. TEZENAS-DU-MONTCEL, D. DAMBIER; département GERDAT laboratoire AGETROP: C. LANAUD, P.J.L. LAGODA, F. CARREEL, F.-C. BAURENS, J.-L. NOYER; D. GONZALEZ-DE-LEON, actuellement au CIMMYT, Mexique; S. FAURE, actuellement au GENETHON, Paris), du CIRAD outremer (station FLHOR en Guadeloupe: F. BAKRY, J.-P. HORRY, actuellement INIBAP, Montpellier), le CRBP au Cameroun (E. FOURE, C. JENNY, E. AUBOIRON) et l'INIBAP.

La carte actuelle est basée sur 82 individus d'une descendance F2 (SF265 [AAcv] X *M.a. banksii* Banksii [AAs]). Elle lie 90 locus (58 RFLP, 4 isoenzymes et 28 RAPD). 77 locus sont associés dans 15 groupes de liaison et 13 locus ségrègent d'une façon indépendante. Une deuxième descendance autofécondée (89 individus) d'un hybride synthétique diploïde AA très fertile (M53), d'un phénotype résistant vis-à-vis de la Maladie des Raies Noires (MRN), est en cours de cartographie.

Bien que cartographier le génome du bananier soit rendu ardu par des translocations spécifiques de sous-espèces, la cartographie comparée révèle des données intéressantes sur la structure des génomes (c.-à-d. points de translocation), mais aussi sur les marqueurs moléculaires utilisés. En fonction de la population cartographiée, les mêmes marqueurs RAPD, s'associent dans des groupes de liaison différents, par contre, les marqueurs RFLP gardent leur colinéarité. Voilà pourquoi l'utilisation exclusive de marqueurs RAPD pour la cartographie de caractères quantitatifs semble mal indiquée. L'analyse des caractères quantitatifs devrait exclusivement se baser sur des marqueurs co-dominants. Cette étude peut être soutenue par les marqueurs RFLP, mais pour le bananier, nous avons récemment testé des marqueurs plus polymorphes et plus abondants: les microsatellites.

La région d'ADN répétée polymorphe des locus microsatellite est assez petite pour être amplifiée par PCR. Il suffit de définir des amorces spécifiques du locus dans les régions uniques flanquant la région variable. En général les locus microsatellites sont uniformément distribués dans les génomes étudiés, et présents en très grand nombre.

Sous ces perspectives, les marqueurs microsatellites semblent pouvoir devenir les "marqueurs d'ancrage" de choix pour une carte "consensus" ou intégrative (core map) du bananier. De plus, il semble plus facile de développer ces marqueurs microsatellites pour l'exportation car il est envisageable de produire des

systèmes intégrés robustes marqueurs/système de détection sous forme de kits PCR non-radioactifs ne demandant qu'un minimum d'infrastructure pour être opérationnels "sur le terrain" (laboratoire portable). Leur distribution et le taux élevé de leur polymorphisme ont fait des microsatellites une source abondante de marqueurs génétiques pour des projets de cartographie de pointe concernant un grand nombre d'espèces des règnes animal et végétal, de la souris à l'homme et du petit pois à la banane. Les résultats de ces études indiquent que les microsatellites peuvent être dix fois plus variables que d'autres systèmes de marqueurs, comme les RFLP. Ils seraient donc les marqueurs de choix pour la cartographie d'espèces à faible taux de polymorphisme intra-spécifique. Les marqueurs microsatellites, détectés par PCR, se présentent ainsi comme un système de marqueurs co-dominants alternatif, complémentaire aux RFLP.

L'utilité des marqueurs microsatellites est accentuée par les procédures relativement simplifiées (PCR, détection non-radioactive sans hybridation, faible quantité et qualité d'ADN génomique nécessaires et suffisantes, automatisable, transférabilité) par rapport aux RFLP. Par contre le développement des marqueurs microsatellites est pour le moment limité par le faible nombre de données de séquences publiées pour la plupart des espèces végétales. Ceci est particulièrement vrai pour les espèces tropicales, comme la banane. Cependant le nombre de groupes de recherche travaillant à la caractérisation moléculaire de ces espèces est croissant et il n'y a pas de doute que ces données seront accessibles à moyen, voire à court terme. Tous les avantages des marqueurs microsatellites sont désormais à la disposition de l'analyse génétique des *Musa*.

Identifier et isoler des locus microsatellites s'effectuent le mieux à l'aide d'une banque génomique à inserts courts. Une banque génomique partielle *Pst* 1 de *Musa*, établie comme source de marqueurs RFLP a été re-criblée avec des sondes synthétiques poly(TA_AT), poly(GC_CG), poly(GA_CT) et poly(GT_CA) selon des procédures standardisées. Après identification par hybridation, les colonies positives purifiées ont été amplifiées pour extraire l'ADN des plasmides, afin de séquencer les inserts. A l'aide de l'information de séquence, des régions microsatellites ont été identifiées et des amorces PCR spécifiques des régions flanquantes synthétisées. Ainsi ces locus microsatellites peuvent être amplifiés, et des allèles identifiés, à partir d'ADN génomique total, en utilisant des protocoles PCR standardis. Un sixième (17%) des clones de la banque génomique bananier comportent au moins un site microsatellite. La majorité des locus appartiennent à la famille des répétitions (GA)_n, ce qui a été surprenant. Le nombre d'allèles par locus varie entre 5 et 24 dans une population de 20 accessions, représentant les différentes sections de la famille des *Musaceae*. Les locus sont conservés dans les sections apparentées.

Nos résultats préliminaires permettent de juger de l'efficacité de l'application des marqueurs microsatellites à la cartographie du génome des bananiers par des méthodes rapides et simplifiées et ouvrent des perspectives sur leur utilisation pour l'identification clonale.

sonde VNDR	% clones positifs (total=132)	microsatellite	n _{simp}	n _{com}
(TC) ₁₀	54	(AG) _n	8	20
(AC) ₁₀	25	(TG) _n	10	21
(AT) ₁₅	14	(A) _n	14	17
		(TTA) _n	6	16
(GC) ₁	7	(TA) ₆ TT(TTAATA) ₇	-	-
		(*)	-	-
		(C) ₁₁ TT(C) ₁₈	-	-

banque	inserts	taille moyenne (kb)	clones positifs	%
<i>Pst</i> 1	765	2.7	132	17

banque *Pst* 1 partielle, criblée par sondes VNDR, abondance des locus VNDR simples et complexes (*) un clone séquencé

Estudio molecular de los recursos genéticos de café: resultados preliminares y trabajos en curso

François Anthony : ORSTOM/CATIE, Unidad de Biotecnología, Ap. 59, 7170 Turrialba (Costa Rica)

Benoît Bertrand : CIRAD CP/PROMECAFE, IICA, Ap. 55, 2200 Coronado, San José (Costa Rica)

Un programa regional de mejoramiento genético del café Arabica está desarrollándose a través del IICA/PROMECAFE, CATIE y Cooperación Francesa, para enriquecer la base genética de las variedades cultivadas en América Central. Se fundamenta en la utilización de los recursos genéticos para introducir nuevas potencialidades en el material cultivado. Sin embargo un uso racional de estos recursos requiere datos sobre la organización de la información genética al nivel molecular.

Esta comunicación presenta los estudios realizados por varios equipos sobre los recursos genéticos de café, con las herramientas de la Biología Molecular. Los resultados se refieren a la estructura de la diversidad genética entre y intra-especies del género *Coffea*, a las relaciones filogenéticas entre especies y a la construcción de un mapeo genético. Se discuten las técnicas utilizadas bajo una visión crítica a fin de poder apoyar al programa regional de mejoramiento genético a corto y mediano plazo.

Etude moléculaire des ressources génétiques du caféier: résultats préliminaires et travaux en cours

François Anthony : ORSTOM/CATIE, Unidad de Biotecnología, Ap. 59, 7170 Turrialba (Costa Rica)

Benoît Bertrand : CIRAD CP/PROMECAFE, IICA, Ap. 55, 2200 Coronado, San José (Costa Rica)

Un programme d'amélioration génétique du caféier Arabica est développé par l'IICA/PROMECAFE, le CATIE et la Coopération Française pour enrichir la base génétique des variétés cultivées en Amérique centrale. Ce programme repose sur l'utilisation des ressources génétiques pour introduire de nouvelles potentialités chez le matériel cultivé. Cependant, une utilisation rationnelle de ces ressources requière des données sur l'organisation de l'information génétique au niveau moléculaire.

Cette communication présente les études réalisées par plusieurs équipes sur les ressources génétiques caféières avec les outils de la Biologie Moléculaire. Les résultats concernent la structure de la diversité génétique inter et intra-spécifique dans le genre *Coffea*, les relations phylogénétiques entre espèces et la construction d'une carte génétique. Les techniques utilisées y sont discutées avec une vision critique afin de pouvoir appuyer le programme régional d'amélioration à court et moyen termes.

Cacao y Marcadores de ADN en el CATIE

W. Phillips, P. Fritz

CATIE, Turrialba, Costa Rica

Los marcadores moleculares han sido utilizados en cacao en investigaciones muy diversas, relacionadas sobre todo con la caracterización de clones, la determinación del nivel de variabilidad del género, en estudios filogenéticos y para la construcción de mapas genéticos de ligamiento. Los marcadores más usados han sido las isoenzimas y los marcadores de ADN denominados RFLP y RAPD.

En el CATIE las investigaciones al respecto se iniciaron en 1987, utilizando inicialmente RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphic DNA). Debido a su menor complejidad, menor costo y mayor rapidez, pronto se adoptó el análisis RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) como metodología de trabajo, aunque en coordinación con el laboratorio Francereco (Tours, Francia) se continuaron haciendo investigaciones con RFLP.

El trabajo en CATIE ha sido posible debido a la existencia de dos poblaciones segregantes de cacao, que han servido de base para la mayoría de los estudios con marcadores moleculares. La primera población se conoce como "Experimento Central de La Montaña", el cual fue establecido en 1977 y corresponde a una población F1 de 120 árboles del cruce entre los clones Catongo y Pound-12. Su objetivo original era evaluar el efecto sobre la producción de cacao, de dos especies arbóreas de sombra: *Cordia alliodora* y *Erythrina poeppigiana*. Este experimento ha sido también objeto de extensivos estudios agronómicos y agroforestales. La segunda población segregante, denominada "Catongo x (Catongo x Pound-12)", fue sembrada en 1990 y corresponde a 191 árboles del retrocruce entre el Catongo y el árbol #33 del Experimento Central.

Las principales aplicaciones en el CATIE de los marcadores de ADN en cacao, ha sido la verificación de cultivares, la construcción de dos mapas de ligamiento genético y el mapeo de los QTL.

VERIFICACION DE CULTIVARES

Por mucho tiempo se creyó que los 120 árboles del Experimento Central pertenecían al cruce "Catongo x Pound-12", pero los análisis RFLP demostraron recientemente, que solo 55 de ellos son híbridos verdaderos. De los restantes árboles, 29 corresponden a autopolinizaciones del Pound-12, tres a autopolinizaciones del Catongo y el remanente no tiene origen conocido. Esto sugiere un error al establecer el experimento. Los resultados también generan preguntas con respecto a la compatibilidad del Pound-12, el cual siempre había sido considerado como autoincompatible, o sea, incapaz de producir autopolinizaciones. Usando la misma metodología se encontró que cinco árboles del retrocruce tampoco correspondían al material original, lo cual evidenció lo frecuente que se da este problema en cacao, a pesar de seguirse las recomendaciones para lograr polinizaciones controladas.

MAPA DE LIGAMIENTO GENETICO

Un mapa de ligamiento genético es una representación gráfica que muestra las posiciones relativas de los genes y/o marcadores en los grupos de ligamiento (cromosomas).

Para la construcción del mapa genético del retrocruce "Catongo x (Catongo x Pound-12)", se aisló el ADN de los clones Catongo y Pound-12 a partir de hojas, luego se aisló el ADN del árbol F1 que sirvió como padre (Arbol 33), y finalmente el ADN de 137 árboles del retrocruce. Utilizando la metodología RAPD, se buscaron polimorfismos entre el Catongo, el Pound-12 y el Arbol 33. Para esto se evaluaron 1.200 "primers", que consistían en secuencias al azar de 10 pares de bases. Solamente se seleccionaron los "primers" que producían bandas amplificadas en el Pound-12 y en el Arbol 33, pero no en el Catongo. Al identificar este tipo de "primers" (cada uno representando loci separados), se concluía que el Arbol 33 debía ser heterocigoto y el cruce con el homocigoto recesivo Catongo daría una segregación 1:1. Esta situación se encontró únicamente en 100 de los 1.200 "primers" evaluados. Cuando la colección de datos fue evaluada usando el programa estadístico llamado MAPMAKER (Lander *et al.* 1987), el cual está diseñado para el análisis del ligamiento genético, se identificaron 10 grupos de ligamiento que corresponden al número

haploide de cromosomas del cacao. En adición a los 81 marcadores RAPD encontrados, el mapa incluye 12 marcadores RFLP y dos marcadores fenotípicos, que corresponden aparentemente, a dos genes simples, uno de ellos relacionado con la producción de antocianinas y el otro con la autoincompatibilidad, ambos ubicados en el cromosoma 4. La distancia total del mapa es de 887 centimorgans, con una distancia promedio entre los loci de 10,5 cM

También se obtuvo un mapa de ligamiento para la población Catongo x Pound-12, con lo cual se pueden iniciar estudios comparativos entre los dos mapas que podrían revelar la fidelidad con que la información genética se transfiere de una generación a otra. En este momento se han identificado 15 marcadores que están presentes en ambos mapas y se ha hecho una integración preliminar de los mismos.

MAPEO DE LOS QTL

La determinación de los QTL o locus relacionados con características cuantitativas es útil en el mejoramiento genético de las plantas, porque ellos pueden servir como marcadores para la selección de plantas en estados tempranos de desarrollo (semillas, plántulas, etc.) y porque actualmente es posible no solo encontrar el locus que está ligado con una característica, sino que también identificar el gen asociado con ese locus.

ra cada árbol del retrocruce se obtuvo dos tipos de información: datos fenotípicos y datos generados con los marcadores de ADN. Ya que los datos de los marcadores fueron integrados dentro de un mapa de ligamiento genético, las comparaciones entre los patrones de herencia de estos marcadores con los datos fenotípicos, permitieron detectar áreas en el cromosoma que están relacionadas con las características. Las comparaciones entre los datos fenotípicos y los marcadores de ADN, fueron establecidas mediante análisis de varianza y pruebas de T no pareada del paquete estadístico Statview. Así por ejemplo, ha sido posible identificar en forma preliminar tres loci que están relacionados con la resistencia a *Phytophthora palmivora*.

II. LOS PROGRAMAS DE SELECCION - LES PROGRAMMES DE SELECTION

Genetic improvement of bananas

F. Bakry & C. Jenny

CIRAD-FLHOR, Station de Neufchâteau, Sainte Marie, 97130 Capesterre Belle Eau, Guadeloupe, FWI.

Black Leaf Streak Disease and Panama Disease are certainly the most important diseases affecting banana. Guadeloupe and Martinique are still BLSD free, but its only a temporary situation as it has already been recorded northward in Cuba and southward in Venezuela .

Faced with these problems, CIRAD-FLHOR started since 1983 a genetic improvement program for export and local consumption bananas, with the help of the EEC-STD program. This program is being developed in collaboration with CIRAD in Montpellier (FLHOR & BIOTROP/AGETROP), the universities of Orsay (Paris), Leuven and Gembloux (Belgium), CATIE (Costa-Rica) and CRBP (Cameroon). This genetic improvement program wishes to identify, create and then promote new varieties, more tolerant or even resistant to these pests and diseases, by developing two main research axis :

- 1- the improvement of cooking bananas for local markets and small farming systems, where no fertilizer nor pesticide is used in traditionnal culture,
- 2- and the selection of dessert type bananas for export and local consumption.

In Guadeloupe, the genetic improvement program of bananas is based on the improvement of diploid clones, basis of the synthesis of successfull triploid varieties. This scheme is composed of four successive steps :

- 1- the obtention of pure lines (homozygous plants), diploid and fertile.
- 2 - the creation of elite F1 hybrids (heterozygous) by crossing these pure lines. These F1 hybrids may have a monospecific origin (*Musa acuminata*) or an interspecific origin (*M. acuminata* / *M. balbisiana*) as it is the case for natural varieties.
- 3 - doubling the number of chromosomes of these F1 hybrids using a colchicine treatment, in order to obtain tetraploid plants ($4X = 2 \text{ times } 2X$)
- 4- and finally, the synthesis of triploid hybrids ($3x$), crossing a tetraploid plant ($4X$ - step 3) with an other diploid pure line.

GENETIC RESOURCES

In Neufchâteau, most of the work dealing with Genetic Resources consists in collecting and storing clones in our living collection, in order to identify and evaluate their potential for varietal creation and selection.

The Neufchâteau collection holds today nearly 400 accessions. In 1994, 12 new accessions from Cuba and 29 from Papua New-Guinea prospections have been added. In these last ones, some are diploid AA cooking cultivars which must be considered as ancestral forms of the present triploid cooking bananas. Those which reveal to be resistant to BLSD (evaluation done at CRBP - Cameroon) will be used for hybridization as soon as possible.

VARIETAL CREATION

Searching for pure lines : androgenesis in bananas.

See the communication upon androgenesis by Kerbellec and Bakry in this same reunion.

Creation of F1 hybrids

In 1994, we mainly concentrate on the creation of interspecific AB hybrids, according to the scheme described here :

BB (wild - female) x AA (cultivar - male) -> AB (cultivar)

There is a lot of variability in these hybrids, but they all reveal a very low pollen fertility rate. Among 135 interspecific diploid hybrids in the field, only 10 were kept in 1994. These are parthenocarpic plants, which heritated good robustness and anchoring from their balbisiana parent.

These plants are now getting through in vitro culture so as to be colchicine treated in order to obtain allotetraploid AABB hybrids, which should be more fertile than the AB corresponding diploid hybrids.

Tetraploidization of diploid clones

Doubling AA and AB clone chromosomic stocks is done using colchicine application on proliferating plants, immersed in liquid culture medium. The selection of tetraploid plants is now made easier by the use of flow cytometry, a reliable method, faster than the chromosome counting previously used. It also allows to distinguish rapidly true tetraploid plants from chimerical myxoploid plants.

We already hold 19 doubled diploid clones and will then soon be able to increase significantly the parental combinations leading to the creation of new triploid varieties.

Creation of AAA and AAB triploid varieties

Creating triploid hybrids was done in 1994 using the following schemes :

AA (female) x AAAA (cultivar, male) --> AAAcv (3X - monospecific)

BB (wild, female) x AAAA (cultivar, male) --> AABcv (3X - interspecific)

Nearly 110 AAB hybrids and 450 AAA hybrids have been planted in 1994 and are presently being evaluated. The more interesting ones are indexed and kept in vitro while copies are sent to Cameroon to be evaluated against BLSD.

SELECTION OF NEW CLONES

IRFA 903, a natural mutant, selected for varietal diversification in export bananas : IRFA 903 is a hardy variety, resistant to BLSD, Yellow Sigatoka and Panama Disease. It produces sweet small sized fruits. In established culture, it may be harvested two times and a half per year. The average bunch weight is 15 kg, which is equivalent to a raw 55T/ha/year yield in the experimental conditions of Neufchâteau. Associated to SICA-Karubana, we have begun in 1994 a study in Guadeloupe to establish the technical constraints of its cultivation and packaging, and to assess the impact of this new variety on consumers.

IRFA 910, IRFA 912 and others : Following the first results obtained with IRFA 909 in 1993, we selected in the same family another hybrid, IRFA 910 (AABcv), with a longer cycle but bigger fruits. Among cooking bananas, we selected another hybrid (IRFA 912 - AABcv) closely related to Laknao, but which may moreover be resistant to BLSD.

New hybrids follow these first selections. We will then be able to raise our choice criteria values (yield, bunch quality, fruit quality, ...) in order to select only first quality products.

L'amélioration génétique des bananiers

F. Bakry & C. Jenny

CIRAD-FLHOR, Station de Neufchâteau, Sainte Marie, 97130 Capesterre Belle Eau, Guadeloupe, FWI.

La Maladie des Raies Noires (MRN), et la Maladie de Panama sont certainement les deux maladies les plus graves du bananier. La Guadeloupe et la Martinique ne sont pas encore atteintes par la MRN mais ces deux îles sont dans une situation extrêmement précaire puisque cette maladie est déjà présente à Cuba au nord et au Vénézuéla au sud.

Face à ces menaces, le CIRAD-FLHOR a mis en place depuis 1983, un programme d'amélioration génétique des bananiers pour l'exportation et pour les consommations locales grâce à l'appui de l'UE (Programme STD). Ce programme est développé en collaboration avec le CIRAD à Montpellier (FLHOR, BIOTROP /AGETROP), les universités d'Orsay à Paris, de Leuven et de Gembloux en Belgique, le CATIE au Costa-Rica et le CRBP au Cameroun. Ce programme d'amélioration génétique et de sélection de bananiers, avec pour objectifs d'identifier, de créer et ensuite, de promouvoir de nouvelles variétés résistantes ou plus tolérantes à ces maladies et ravageurs, a développé deux axes prioritaires de recherche:

- l'amélioration des bananiers à cuire de culture villageoise et des marchés intérieurs pour lesquels aucun intrant n'est utilisé dans les conditions traditionnelles de culture.
- la sélection de bananiers de type dessert pour l'exportation et les consommations locales.

En Guadeloupe, le programme d'amélioration génétique des bananiers repose sur l'amélioration des clones diploïdes, base de la synthèse de variétés triploïdes performantes. Ce schéma se décompose en quatre étapes successives fondamentales:

- l'obtention de lignées (plantes homozygotes), diploïdes et fertiles.
- la création d'hybrides F1 diploïdes "élites" (hétérozygotes) par croisement de ces lignées pures entre elles. Les hybrides F1 peuvent être d'origine monospécifique (*M. acuminata*) ou d'origine interspécifique (*M. acuminata* / *M. balbisiana*), comme les variétés naturelles.
- le doublement du stock de chromosomes de ces hybrides F1 par un traitement à la colchicine pour obtenir des plantes tétraploïdes ($4X = 2$ fois $2X$).
- et enfin, la synthèse d'hybrides triploïdes ($3X$), en croisant une plante tétraploïde ($4X$) obtenue dans l'étape précédente avec une autre lignée diploïde ($2X$).

LES RESSOURCES GENETIQUES

Les travaux en Ressources Génétiques sur la station de Neufchâteau, consistent à collecter et conserver les clones en collection, afin de les identifier et évaluer leur potentiel pour la création variétale et la sélection.

La collection de Neufchâteau contient aujourd'hui près de 400 accessions. Elle s'est enrichie en 1994, de 12 nouvelles accessions en provenance de Cuba et de 29 accessions des prospections faites en Papouasie Nouvelle Guinée. Parmi ces dernières, certaines sont des diploïdes AACv à cuire qui doivent être considérées comme des formes ancestrales des bananiers triploïdes à cuire actuels. Celles qui sont résistantes à la MRN (évaluation faite au CRBP), seront utilisées en croisement très prochainement.

LA CREATION VARIETALE

La recherche de lignées: l'androgénèse du bananier.

Voir la présentation sur l'androgénèse du bananier (F. Kerbellec & F. Bakry) dans cette même réunion.

La création d'hybrides F1

Pour 1994, elle concerne exclusivement la création d'hybrides interspécifiques AB selon le schéma exposé avant:



Ces hybrides varient beaucoup des uns aux autres mais ils ont tous en commun une fertilité pollinique très faible. Parmi les 135 diploïdes interspécifiques plantés, 10 seulement ont été retenus en 1994. Ce sont des plantes parthénocarpiques qui ont hérité de la bonne vigueur et du bon ancrage dans le sol du parent *balbisiana*. Ces hybrides sont actuellement passés *in vitro* pour être doublés à la colchicine afin d'obtenir des allotétraploïdes AABB qui devraient être plus fertiles que les diploïdes AB correspondant.

La tétraploïdisation des clones diploïdes.

Le doublement des clones AA et AB est effectué par l'application de colchicine sur des touffes de plantes en prolifération immergées dans des milieux de culture liquides. La recherche des plantes tétraploïdes est facilitée désormais par l'utilisation de la cytométrie en flux, méthode sûre, beaucoup plus rapide que le comptage de chromosomes fait précédemment. Elle permet, en outre, de distinguer rapidement les plantes véritablement tétraploïdes des chimériques mixoploïdes.

Nous recensons actuellement 19 clones diploïdes doublés qui nous permettront d'augmenter significativement les combinaisons de parents menant à la création de nouvelles variétés triploïdes.

La création de variétés triploïdes AAA et AAB. En 1994, la création des triploïdes a été faite selon les schémas suivants:



Près de 110 hybrides AAB et 450 hybrides AAA ont été plantés en 1994 et sont en cours d'observation. Les plus intéressants sont indexés, réintroduits in vitro, et envoyés au Cameroun pour être évalués pour leur résistance à la MRN.

LA SÉLECTION DE NOUVEAUX CLONES

IRFA903, un mutant naturel, sélectionné pour la diversification variétale à l'exportation: IRFA903 est une variété rustique, résistante à la MRN, la Cercosporiose jaune et la Maladie de Panama. Elle produit des fruits sucrés, de petite taille. En culture établie, elle autorise deux récoltes et demi par an ; le poids moyen des régimes est de 15 kg, ce qui équivaut à une productivité brute de 55 T/Ha/an environ dans les conditions expérimentales de la station de Neufchâteau. En relation avec la SICA-Karubana, une étude a débuté en 1994, en Guadeloupe, pour déterminer les itinéraires techniques appropriés à sa culture, étudier son conditionnement et évaluer l'impact de cette nouvelle variété sur les consommateurs.

IRFA910, IRFA912 et autres: à la suite du premier hybride IRFA909, obtenu en 1993, un autre descendant de la même famille, plus tardif mais à fruits plus gros, a été sélectionné et baptisé IRFA910 (AABcv) en 1994. Parmi les bananiers à cuire, nous avons sélectionné entre autres, un clone baptisé IRFA912 (AABcv), rappelant les Laknao, mais qui de surcroît pourrait être résistant à la MRN.

De nouveaux hybrides suivent ces premières sélections. Nous serons alors en mesure de relever la valeur de nos critères de choix (rendement, qualité des régimes, des fruits, etc...) pour ne délivrer que des produits de première qualité.

Plantain breeding at the CRBP: Objectives, Strategies And Results.

K. Tomekpe, E. Auboiron et P. Noupadja

Centre Regional de Recherches sur Bananiers et Plantains; (CRBP) Cameroun

Plantain breeding at the CRBP aims to create plantain-like tetraploid hybrids from the scheme AAB (plantain) x AA == > AAA. These hybrids have to be mainly parthenocarpic and resistant to black leaf strat. They have to combine pendulous bunch, good ratooning, insignificant fertility, good culinary and sensorial qualities, shorter height and cycle than their plantain parents.

Breeding program developed since 1992 at the CRBP allowed the selection of six promising plantain-like tetraploid through two cycles of preliminary evaluation. These hybrids are undergoing clonal evaluation at the CRBP in order to corroborate their resistance to black leaf streak and their agronomic and culinary characteristics.

Twenty other tetraploid and a few plantain-like triploids are undergoing preliminary evaluation.

These hybrids are issued from French plantains pollinated with wild diploid *Musa acuminata burmanicoides*, type Calcutta 4 or the parthenocarpic hybrid M53. This improved hybrid parent originated from Jamaica is the backbone of the CRBP male parents improvement strategy. M53 is undergoing inbreeding selection through a process of successive selfings/selections in order to create elite inbred or pure lines. At present, the best progenies issued from the M53 selfing are used as male parents in AAB x AA breeding. The male program will also be supported by the large diploid germplasm of CRBP, 60 varieties among 345 accessions of the CRBP active collection are AA diploids, 20 cooking AA bananas from Papua New Guinea, 60 improved AA hybrids from CIRAD-FLHOR/Guadeloupe and promising plantain-like diploids from AAB x AA breeding are undergoing evaluation. The best individuals will be used as male parents in the breeding program.

To optimize tetraploid hybrid production plots of French plantains showing the best 2n x 3x female gametes production rates have been created. Their plantation has been planned over several months in order to study seasonal effect on hybrid production and determine the best crossing periods.

The next objective of the CRBP conventional breeding program is the creation of plantain-like and other cooking type triploid hybrids from the scheme AABB (AB double by colchicine) x AA == > AAB and AABB x BB == > ABB. These hybrids will have to present similar qualities to tetraploid hybrids. As the triploid cultivars, they will have to be male and female sterile or present insignificant female fertility. Priority will be given to this new objective of the conventional breeding program. This new breeding option will progressively replace the 3X/2X breeding and its realization will require close cooperation with the CIRAD-FLHOR/Guadeloupe program that has already obtained interesting results through this triploid creation strategy.

Concerning non-conventional breeding, various collaborations are needed to develop techniques required for gene insert in triploid cultivars. The CRBP already contributes to this collaboration through its work on plantain cell suspensions (French Sombre, French Clair, Kelong Mekintu). A few embryogenic calluses have been obtained. Conformity of French Sombre plants regenerated by somatic embryogenesis has been verified within the first cycle on populations issued from different suspensions.

The CRBP has undertaken the obtention of cooking type AA diploid bananas embryogenic calluses in order to create cell suspensions. This work is a step towards the creation of triploid hybrids through fusion of diploid and haploid protoplasts.

L'amélioration génétique des plantains au CRBP: Objectifs, Stratégies et Résultats

K. Tomekpe, Auboiron et P. Noupadja

Centre Regional de Recherches sur Bananiers et Plantains; (CRBP) Cameroun

Le programme d'amélioration génétique des plantains au CRBP vise la création d'hybrides tétraploïdes de type plantain à partir du schéma AAB (plantain) x AA == AAAB. Ces hybrides doivent être principalement parthénocarpiques et résistants à la cercosporiose noire. Ils doivent avoir un régime perdant, une fertilité négligeable, des qualités organoleptiques appréciables, un meilleur rejouissance, une taille et un cycle plus courts que leurs parents plantains.

Les travaux d'amélioration menés depuis 1992 au CRBP ont permis de sélectionner 6 hybrides tétraploïdes de type French plantain à l'issue de deux cycles d'évaluation préliminaire. Ces hybrides vont subir prochainement une évaluation clonale pour confirmer leur résistance à la cerosporiose noire et leurs qualités agronomiques et organoleptiques. vingt autres hybrides tétraploïdes et quelques diploïdes de type plantain sont en cours d'évaluation préliminaire.

Ces hybrides sont issus de plantains hybrides avec du pollen de *M. acuminata* burmanicoïdes, type Calcutta 4 ou de l'hybride perthénocarpique M53. Cet hybride synthétique originaire de Jamaïque constitue le pilier de notre programme mâle il est à l'origine d'un processus de sélection généalogique pour sélectionner des parents mâles élités homozygotes. Les meilleurs descendants issus de l'autofécondation de M53 sont actuellement testés en hybridation. Le programme mâle va également s'appuyer sur le vaste germoplasme diploïde du CRBP: 60 des 345 accessions de la collection active du CRBP sont des diploïdes AA incluant des diploïdes AA de type à cuire en provenance de Papouasie-Nouvelle Guinée une soixantaine d'hybrides AA introduits du CIRAD-FLHOR de Guadeloupe et les hybrides diploïdes de type plantain issus du schéma AAB x AA sont en cours d'évaluation. Les meilleurs individus serviront de parents mâles dans le programme d'hybridation.

Des parcelles d'hybridation constituées des plantains ayant les meilleurs taux de production d'ovules non réduits $2n = 3x$ ont été installées en vue d'optimiser la production de tétraploïdes. Leur plantation a été échelonnée dans le temps afin d'étudier l'influence des saisons sur la production d'hybrides et de déterminer les meilleures périodes de croisement.

Le prochain objectif du programme d'amélioration conventionnelle du CRBP est de créer des hybrides triploïdes de type plantain et autre banane à partir du schéma AABB (AB doublé avec la colchicine) x AA \Rightarrow AAB et AABB x BB \Rightarrow ABB. Ces hybrides devront présenter des qualités semblables aux hybrides tétraploïdes. A l'instar des cultivars triploïdes, ils devront avoir une stérilité mâle absolue et une fertilité femelle nulle ou négligeable. La concrétisation de ce nouveau schéma, appelé à remplacer progressivement les hybridations AAB x AA, nécessitera l'appui scientifique du CIRAD-FLHOR de Guadeloupe qui a déjà obtenu des résultats intéressants avec cette stratégie de création des triploïdes.

Concernant l'amélioration non conventionnelle, la mise au point des outils nécessaires à la stratégie de transfert de gènes des cultivars triploïdes met en jeu des collaborations multiples. Le CRBP y participe en travaillant à la maîtrise des suspensions cellulaires régénérantes sur plusieurs plantains (French Sombre, French Clair, Kelong Mekintu). Quelques cals de type embryogenèse somatique ont pu être vérifiés en premier cycle sur des populations issues de différentes suspensions.

L'obtention de cals embryogènes de diploïdes AA de type à cuire en vue de la création de suspensions cellulaires a été initiée au CRBP. Cette opération constitue une étape pour l'application du schéma de création d'hybrides triploïdes par fusion de protoplastes diploïdes et haploïdes.

El mejoramiento genético de *Coffea arabica* en América Central

Benoît BERTRAND*, Francois ANTHONY**

(*)CIRAD CP/ PROMECAFE AP 55, 2200 CORONADO, San José, Costa Rica

(**)ORSTOM/CATIE, Unidad de Biotecnología, CATIE, 7170, Turrialba, Costa Rica

Las variedades del café Arábica sembradas en América Central provienen en su mayoría de una base genética estrecha y que carece de los genes de resistencia a las principales enfermedades y plagas. Un programa de selección genealógica, a base de cruces iniciales con el Híbrido de Timor, se desarrollo a partir de 1980 y dio origen a las nuevas variedades Catimores. Algunas de ellas superan a las variedades tradicionales, razón por la cual se comienza su liberación a los caficultores. Lo esencial del progreso genético que expresan éstas nuevas variedades proviene de la resistencia a la roya y en menor parte a los nematodos, conferidos por el padre Híbrido de Timor. Trabajos recientes demuestran igualmente que algunas líneas de Catimores expresan un cierto grado de resistencia al *Coffee Berry Disease*. El programa de selección de los Catimores esta por acabarse. Se propone la recombinación de las mejores líneas y el enriquecer la base genética a partir de individuos silvestres (Etiopes), que se encuentran en la colección del CATIE. Las características agronómicas de los padres Etiopes son brevemente descritas y se presenta el programa de creación de híbridos F1.

L'amélioration génétique de *coffea arabica* en Amérique Centrale.

Benoît BERTRAND*, Francois ANTHONY**

(*)CIRAD CP/ PROMECAFE AP 55, 2200 CORONADO, San José, Costa Rica

(**)ORSTOM/CATIE, Unidad de Biotecnología, CATIE, 7170, Turrialba, Costa Rica

Le verger du caféier Arabica d'Amérique Centrale, est composé en majorité de variétés issues d'une base génétique étroite et dépourvue des gènes de résistance aux principales maladies et parasites. Un programme de sélection généalogique, à partir de croisements initiaux faisant intervenir l'Hybride de Timor, s'est développé à partir de 1980. De nouvelles variétés- les Catimors - en sont issues. Certaines s'avèrent supérieures aux variétés traditionnelles et commencent à être diffusées aux caféiculteurs. L'essentiel du progrès génétique provient de la résistance à la rouille et dans une moindre mesure aux nématodes, conférées aux nouvelles variétés par le parent Hybride de Timor. Des travaux récents montre également que les Catimors possèdent une résistance potentielle au *Coffee Berry Disease*. Le programme de sélection généalogique des Catimor touchant à sa fin, il est proposé de recombiner les lignées les plus intéressantes et d'élargir la base génétique à partir des individus sauvages (Ethiopiens), conservés au CATIE. Les caractéristiques agronomiques des parents Ethiopines sont passées en revue et le programme de création d'hybrides F1 est décrit.

Resistencias genéticas a plagas y enfermedades de la piña

Geo Coppens d'Eeckenbrugge, CIRAD-FLHOR/IPGRI, AA 6713 (CIAT), Cali, Colombia
 Aristoteles Pires de Matos, EMBRAPA-CNPMP, Cruz das Almas, Bahía, Brasil
 Freddy Leal, UCV Maracay, Venezuela

Para modernizar e intensificar sus cultivos, los productores de piña para mercados locales adoptan el cultivar Cayena Lisa y la tecnología desarrollada por empresas que intervienen en el mercado internacional, con un creciente costo económico y ambiental. El grave riesgo fitosanitario asociado a la reducción de la base genética del cultivo ha justificado amplios programas de mejoramiento pero éstos no han logrado una diversificación varietal y la información obtenida sobre la herencia de los caracteres de resistencia es fragmentaria. La constitución de importantes colecciones de germoplasma es todavía demasiado reciente para su exploración sistemática y la identificación de fuentes de resistencia.

Resistencia a nemátodos e insectos

Cinco especies de nemátodos tienen una importancia significativa a nivel mundial: *Meloidogyne javanica* y *M. incognita*, *Pratylenchus brachiurus*, *Rotylenchulus reniformis*, y *Helicotylenchus* sp. Las variedades 'Cayena Lisa' y 'Española Roja' son susceptibles a *M. incognita* y *Rotylenchulus reniformis*. 'Manzana', 'Natal' ('Queen'), 'Pernambuco' ('Pérola'), 'Wild Kailua', y los híbridos obtenidos con esta última, mostraron tolerancia [1-3]. 'Pérola' también fue el cultivar menos infestado en dos ensayos sobre la susceptibilidad a *Pratylenchus brachiurus* [4]. 'Manzana' resultó susceptible a *Pratylenchus neglectus* [3]. *Ananas ananassoides* y *A. bracteatus* son generalmente resistentes a los nemátodos [1, 2].

Thecla basilides, un lepidóptero cuya larva cava galerías en los frutos, constituye una limitación importante para el cultivo de la piña en Suramérica. Mientras el cultivar Cayena Lisa es altamente susceptible, las larvas no alcanzan a penetrar las inflorescencias de los cultivares peruanos Samba y Roja Trujillana [5]. Esta resistencia de probable origen mecánico podría existir para las larvas de moscas que ponen sus huevos sobre la inflorescencia.

Resistencia a hongos

Las pudriciones del corazón y de las raíces, causadas por *Phytophthora nicotianae* var *parasitica* y *P. cinnamomi* se encuentran en la mayoría de las zonas de producción. Son muy severas en condiciones de pH y humedad altos. Como la infección por *P.n parasitica* ocurre mediante la proyección de gotas de lluvia y tierra en la roseta de las plantas jóvenes, las variedades con un porte erecto deberían contaminarse menos. 'Queen' se considera susceptible, y 'Cayena Lisa', 'Española Roja', y 'Singapore Spanish' tolerantes [6]. El híbrido hawaiano '53-323' es muy resistente a *P. cinnamomi* y muy susceptible a *P.n. parasitica*, mientras el híbrido '59-656' es resistente a ambos patógenos [7]. La resistencia de *A. ananassoides* y *A. bracteatus* se transmite a su descendencia híbrida [8].

La fusariosis, causada por *Fusarium subglutinans*, es la enfermedad más grave de la piña en Brasil. Ha sido observada también en Bolivia sobre 'Española Roja' [9], en Paraguay (Duval com.pers.), y en Chile sobre frutos en un mercado [10]. Se la puede considerar la principal amenaza para la piñicultura americana. *F. subglutinans* es capaz de infectar cualquier parte de la planta, provocando la exudación de una sustancia gomosa a partir de los tejidos infectados. Dado su impacto económico, EMBRAPA empezó un programa de mejoramiento para resistencia. Ensayos con inoculaciones artificiales y observaciones de campo mostraron la susceptibilidad de la mayoría de las variedades, incluyendo las cuatro más cultivadas a nivel mundial, 'Cayena Lisa', 'Queen', 'Singapore Spanish' y 'Española Roja', y la resistencia de 26 variedades cultivadas y clones de otras especies de los géneros *Ananas* y *Pseudananas*. Los cultivares resistentes 'Perolera' y 'Primavera', el *A. bracteatus* 'Sao Bento', y los cultivares tolerantes 'Roxo de Tefé' y 'Guiana' se cruzaron principalmente con 'Cayena Lisa' y 'Pérola' y produjeron más de 23000 híbridos. En primera generación, todos los híbridos entre genitores susceptibles y resistentes son resistentes, mientras que los híbridos entre variedades susceptibles son susceptibles, lo que sugiere un mecanismo genético simple y dominante [11].

La pudrición negra, causada por *Chalara paradoxa* (syn. *Thielaviopsis*) afecta el material de plantío y los frutos, entrando por las heridas producidas al cosechar estas partes. Se han observado diferencias varietales, 'Cayena Lisa' mostrándose más susceptible que 'Española Roja' [7].

La enfermedad de la mancha negra del fruto es causada principalmente por *Penicillium funiculosum* y *Fusarium moniliforme*, pero también intervienen *Fusarium subglutinans*, la levadura *Candida guilliermondii*, y los ácaros *Steneotarsonemus ananas* y *Dolycho-tetranychus floridanus* [7]. Se manifiesta por una

suberización y/o una coloración marrón o negra del ojo, desarrollándose a partir de los lóculos. Su incidencia y la intervención de los distintos agentes es muy variable en el tiempo y entre las áreas de producción. En Martinica, las pérdidas de rodajas pueden alcanzar 25% o más en ciertas épocas. No se ha encontrado un método eficiente de control químico. 'Cayena Lisa', y más aún 'Queen' y 'Perolera', son susceptibles, 'Blanca' del Perú parece resistente o tolerante. Faltan todavía conocimientos básicos sobre la etiología de la enfermedad y pruebas estandarizadas para evaluar el germo-plasma existente o los híbridos. La resistencia a uno de los hongos no se refleja necesariamente en la resistencia al otro y los síntomas dependen de la variedad. Así, el híbrido hawaiano '53-116' desarrolla niveles de infección altos con *P. funiculosum* y bajos con *F. subglutinans*. El híbrido '58-114' muestra poca suberización entre los ojos pero altos niveles de mancha negra con ambos patógenos [7].

Resistencia a bacterias

La resistencia de la piña a las enfermedades bacterianas es muy poco documentada. 'Queen' y 'Singapore Spanish' son susceptibles a la pudrición de la fruta causada por *Erwinia chrysanthemi*, mientras que 'Cayena Lisa' resulta menos afectada [12].

Resistencia a enfermedades virales

La marchitez roja, una de las enfermedades más comunes y severas de la piña, es una enfermedad compleja que involucra a las cochinillas harinosas, *Dysmicoccus brevipes* y *D. neobrevipes*, y probablemente a un closterovirus o a un complejo viral. Las especies *A. ananassoides* y *A. bracteatus* son resistentes. El cultivar Pérola es tolerante. Han aparecido mutaciones que confieren resistencia al cultivar Cayena Lisa, resistencia que pudo ser transmitida por hibridación [13, 14]. Por otra parte, si se confirmara la relación de causalidad entre la enfermedad y la presencia de un virus en particular, se podría conferir una resistencia genética por transformación.

Desórdenes fisiológicos

El ennegrecimiento interno del fruto se ha relacionado con el frío y con una baja concentración en ácido ascórbico. La selección de variedades con un alto contenido de esta vitamina es lógicamente la mejor manera de conseguir una resistencia genética.

Perspectivas

Una preocupación prioritaria debe ser la de ampliar la base genética del cultivo con la promoción de variedades locales, generalmente más rústicas que la 'Cayena Lisa' y la creación de variedades que acumulen genes de resistencia. Simultáneamente, se debe rescatar y evaluar el germoplasma amenazado. Para ambos objetivos, el genetista necesita disponer de herramientas esenciales como las pruebas estandarizadas para evaluar su material vegetal. En el caso de la piña, hay demasiado campo libre para la colaboración entre genetistas y fitopatólogos.

Referencias

1. Collins, J.L. y H.R. Hagan, 1932. *J. Hered.*, 23:459-465, 503-511.
2. Ayala, A., E. González-Tejera, y H. Irizarry, 1969. In *Nematodes of tropical crops*, J.E. Peachey, Editor, CAB, p. 210-224.
3. Redondo-Echeverri, E. y F. Varón. 1992. *Fitopatología Colombiana*, 16(1-2):180-192.
4. Sarah, J.-L., L. Mesnildrey, E. Marguerite y M. Boisseau. 1996. *Acta Hort.*, in press.
5. Bello, S., H. Villachica, y A. Julca. 1996. *Acta Hort.*, in press.
6. Py, C., J.-J. Lacoëuilhe, y C. Teisson. 1984. *L'ananas, sa culture, ses produits*. G.P. Maisonneuve & Larose, Paris. 561pp.
7. Rohrbach, K.G. y D.P. Schmitt. 1994. In *Compendium of tropical fruit diseases*, R.C. Ploetz et al., Ed., A.P.S. Press: St Paul, MI, p. 45-55.
8. Williams, D.D.F. y H. Fleisch. 1993. *Acta Hort.*, 334:67-76.
9. Matos, A.P. de, X. Mourichon, y A. Pinon. 1992. *Fruits*, 47:33.
10. Montealegre, J.R. y L.E. Luch-singer. 1990. *Fitopatología*, 25:51-53.
11. Cabral, J.R.S., A.P. de Matos, y G. Coppens d'Eeckenbrugge. 1996. *Acta Hort.*, in press.
12. Lim, W.H. y P.H. Lowings. 1979. *Plant Disease Reporter*, 63(3):170-174.
13. Torres Navarro, H., H. Lozoya Saldana, y D. Uriza Avila. 1989. *Rev. Chapingo*, 13-16(62-63):156-160.
14. Collins, J.L. 1960. *The pineapple, botany, utilisation, cultivation*. Leonard Hill Ltd., London 294pp.

Résistances génétiques aux maladies et ravageurs de l'ananas

Geo Coppens d'Eeckenbrugge, CIRAD-FLHOR/IPGRI, AA 6713 (CIAT), Cali, Colombie
 Aristoteles Pires de Matos, EMBRAPA-CNPMPF, Cruz das Almas, Bahia, Brésil
 Freddy Leal, UCV Maracay, Vénézuéla

Pour moderniser et intensifier leur production, les producteurs nationaux adoptent le cultivar Cayenne Lisse et la technologie développée par les entreprises intervenant sur le marché international, malgré leur coût et leur impact sur l'environnement. Le risque phytosanitaire associé à la réduction de la base génétique de la culture a justifié de larges programmes d'amélioration mais ceux-ci n'ont pas abouti à élargir la gamme variétale et l'information obtenue sur l'hérédité des caractères de résistance reste fragmentaire. La constitution d'importantes collections de germoplasme est encore trop récente pour avoir permis leur exploration systématique et l'identification de sources de résistances.

Résistances aux nématodes et insectes

Cinq espèces de nématodes sont importantes à l'échelle mondiale : *Meloidogyne javanica* et *M. incognita*, *Pratylenchus brachiurus*, *Rotylenchulus reniformis*, et *Helicotylenchus* sp. 'Cayenne Lisse' et 'Española Roja' sont susceptibles à *M. incognita* et *Rotylenchulus reniformis*. Les cultivars Manzana, Natal ('Queen'), Pernam-buco ('Pérola'), Wild Kailua, et les hybrides obtenus avec ce dernier, sont tolérants [1-3]. 'Pérola' a également été le cultivar le moins infesté lors de deux essais sur la susceptibilité à *Pratylenchus brachiurus* [4]. 'Manzana' est susceptible à *Pratylenchus neglectus* [3]. *Ananas ananassoides* et *A. bracteatus* sont généralement résistants aux nématodes [1, 2].

Thecla basilides, un lépidoptère dont la larve creuse des galeries dans les fruits, constitue une limitation importante de la culture de l'ananas en Amérique du Sud. Alors que le cultivar Cayenne Lisse y est très susceptible, les larves ne parviennent pas à pénétrer les inflorescences des cultivars péruviens Samba et Roja Trujillana [5]. Ce type de résistance, probablement d'origine mécanique, pourrait exister pour les larves des mouches qui pondent sur l'inflorescence.

Résistances aux champignons

Les pourritures du cœur et des racines, causées par *Phytophthora nicotianae* var *parasitica* et *P. cinnamoni* se rencontrent dans la plupart des zones de production. Elles sont plus sévères en conditions humides et de pH élevé. L'infection par *P.n. parasitica* se produisant par projection de gouttes de pluie et de terre dans les rosettes des jeunes plantes, un port érigé devrait réduire la contamination. 'Queen' est considérée susceptible, 'Cayenne Lisse,' 'Española Roja,' et 'Singapore Spanish' tolérantes [6]. L'hybride hawaïen '53-323' est très résistant à *P. cinnamoni* et très susceptible à *P.n. parasitica*, tandis que l'hybride '59-656' est résistant aux deux pathogènes [7]. La résistance d'*A. ananassoides* et d'*A. bracteatus* se transmet à leur descendance hybride [8].

La fusariose, causée par *Fusarium subglutinans*, est la maladie la plus grave de l'ananas au Brésil et la principale menace en Amérique. Elle a été observée également en Bolivie sur 'Española Roja' [9], au Paraguay (Duval com.pers.), et au Chili sur un marché [10]. *F. subglutinans* peut infecter toutes les parties de la plante, provoquant une gommose dans les tissus infectés. A cause de son impact économique, l'EMBRAPA a lancé un programme d'amélioration pour la résistance. Des essais d'inoculations artificielles et les observations en champ ont montré la susceptibilité de la plupart des variétés, y compris les quatre les plus cultivées mondialement, 'Cayenne Lisse', 'Queen', 'Singapore Spanish' et 'Española Roja', et la résistance de 26 variétés cultivées et clones d'autres espèces des genres *Ananas* et *Pseudananas*. Les cultivars résistants 'Perolera' et 'Primavera', l'*Ananas bracteatus* 'Sao Bento', et les cultivars tolérants 'Roxo de Tefé' et 'Guiana' ont été croisés principalement avec 'Cayenne Lisse' et 'Pérola' pour produire plus de

23000 híbridos. En première génération, tous les hybrides entre géni-teurs susceptibles et résistants sont résistants, tandis que les hybrides entre variétés susceptibles sont susceptibles, ce qui suggère un mécanisme génétique simple et dominant [11].

La pourriture noire des fruits et des rejets, causée par *Chalara paradoxa* (syn. *Thielaviopsis*) pénètre par les blessures produites lors de leur récolte. Des différences variétales ont été observées, 'Cayenne Lisse' se montrant plus susceptible que 'Española Roja' [7].

La maladie des taches noires est causée principalement par *Penicillium funiculosum* et *Fusarium moniliforme*. *Fusarium subglutinans*, la levure *Candida guilliermondii* et les acariens *Steneotarsonemus ananas* et *Dolycho-tetranychus floridanus* peuvent aussi y être associés [7]. Elle se manifeste par une subérification externe et/ou une coloration interne marron ou noire des yeux se développant à partir des loges ovariennes. Son incidence et l'intervention des différents agents est très variable dans le temps et entre les zones de production. En Martinique, les pertes peuvent dépasser 25% des tranches à certaines époques. Il n'existe pas de contrôle chimique. 'Cayenne Lisse', et surtout 'Queen' et 'Perolera', sont susceptibles, 'Blanca' du Pérou semble résistante ou tolérante. Les connaissances de base sur l'étiologie de la maladie et des tests standardisés de résistance manquent pour évaluer le germoplasme existant et les hybrides. La résistance pour l'un des agents n'est pas nécessairement liée à celle pour un autre et les symptômes dépendent de la variété. Ainsi la susceptibilité de l'hybride hawaïen '53-116' est forte avec *P. funiculosum* et faible avec *F. subglutinans*. Avec les deux pathogènes, l'hybride '58-114' ne montre pas de subérification entre les yeux mais de nombreuses taches noires [7].

Résistances aux bactéries

La résistance aux maladies bactériennes de l'ananas est peu connue. 'Queen' et 'Singapore Spanish' sont susceptibles à la pourriture du fruit causée par *Erwinia chrysanthemi*, tandis que la 'Cayenne Lisse' est moins affectée [12].

Résistance aux maladies virales

Le wilt, une des maladies les plus communes et les plus graves de l'ananas, est une maladie complexe impliquant les cochenilles *Dysmi-coccus brevipes* et *D. neobrevipes*, et probablement un clostérovirus ou un complexe viral. Les espèces *A. ananassoides* et *A. bracteatus* sont résistantes. Le cultivar Pérola est tolérant. Des mutants résistants sont apparus chez 'Cayenne Lisse' ; cette résistance est transmissible [13, 14]. Par ailleurs, si une relation de causalité entre la maladie et la présence d'un virus était confirmée, la résistance génétique pourrait être conférée par transformation.

Désordres physiologiques

La sélection pour une teneur élevée en acide ascorbique semble la meilleure manière d'obtenir une résistance au brunissement interne du fruit.

Perspectives

L'élargissement de la base génétique de la culture, qui doit être une préoccupation prioritaire, passe par la promotion de variétés locales, généralement plus rustiques que la 'Cayenne Lisse', et la création de variétés accumulant des gènes de résistance. Simultanément, il faut sauver et évaluer le germoplasme menacé. Pour

ces deux objectifs, le généticien doit disposer d'outils aussi essentiels que les tests standardisés pour évaluer son matériel végétal. Dans le cas de l'ananas, l'espace de collaboration entre généticiens et phytopathologistes est encore largement inoccupé.

Références

1. Collins, J.L. et H.R. Hagan, 1932. *J. Hered.*, 23:459-465, 503-511.
2. Ayala, A., E. González-Tejera, et H. Irizarry, 1969. In *Nematodes of tropical crops*, J.E. Peachey, Editor, CAB. p. 210-224.
3. Redondo-Echeverri, E. et F. Varón. 1992. *Fitopatología Colombiana*, 16(1-2):180-192.
4. Sarah, J.-L., L. Mesnildrey, E. Marguerite et M. Boisseau. 1996. *Acta Hort.*, in press.
5. Bello, S., H. Villachica, et A. Julca. 1996. *Acta Hort.*, in press.
6. Py, C., J.-J. Lacoëuilhe, et C. Teisson. 1984. *L'ananas, sa culture, ses produits*. G.P. Maisonneuve & Larose, Paris. 561pp.
7. Rohrbach, K.G. et D.P. Schmitt. 1994. In *Compendium of tropical fruit diseases*, R.C. Ploetz et al., Ed., A.P.S. Press: St Paul, MI, p. 45-55.
8. Williams, D.D.F. et H. Fleisch. 1993. *Acta Hort.*, 334:67-76.
9. Matos, A.P.de, X. Mourichon, et A. Pinon. 1992. *Fruits*, 47:33.
10. Montealegre, J.R. et L.E. Luch-singer. 1990. *Fitopatología*, 25:51-53.
11. Cabral, J.R.S., A.P.de Matos, et G. Coppens d'Eeckenbrugge. 1996. *Acta Hort.*, in press.
12. Lim, W.H. et P.H. Lowings. 1979. *Plant Disease Reporter*, 63(3):170-174.
13. Torres Navarro, H., H. Lozoya Saldana, et D. Uriza Avila. 1989. *Rev. Chapingo*, 13-16(62-63):156-160.
14. Collins, J.L. 1960. *The pineapple, botany, utilisation, cultivation*. Leonard Hill Ltd., London 294pp.