

香蕉品種改良的新途徑

鄧澄欣 黃新川 李倩雲

台灣香蕉研究所

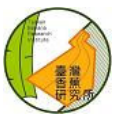
中國園藝第三十七卷第三期抽印本

中華民國八十年九月

Reprinted from

Journal of The Chinese Society for Horticultural Science

Vol. 37. No. 3, September 1991



香蕉品種改良的新途徑

鄧澄欣 黃新川 李倩雲
台灣香蕉研究所

關鍵字：香蕉、育種、組織培養、基因轉移、遺傳工程

摘要：鮮食用香蕉大多是三倍體品種，因減數分裂時染色體異常及不稔性因子，構成香蕉育種上的困難。六十多年來，傳統雜交育種方法，包括二倍體雜交選育及三或四倍體的合成，成效不大。近來生物科技發展日新月異，應用新技術於香蕉育種，望能有所突破。本文探討香蕉品種改良的新途徑，包括如何以莖頂分生組織、胚組織、體胚、花藥及細胞融合等，進行種源保存、體營養系變異的篩選、誘導突變、基因轉移及染色體組重組等工作，從而選育豐產、抗病、及具優良園藝性狀和品質的香蕉品種。這些新途徑的建立需賴各方合力研究，共同發展。

New Approaches to the Improvement of Banana Variety

Ching-Yan Tang Shin-Chuan Hwang Sin-Wan Lee

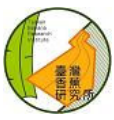
Taiwan Banana Research Institute P. O. Box 18, Chiuju, Pingtung, Taiwan
Republic of China

Key words : bananas, breeding, tissue culture, gene transfer, genetic engineering.

Summary Most of the edible bananas are triploid in nature. Because of the abnormal chromosomal behaviour at meiosis and sterility factor, it is difficult to improve banana variety by using traditional hybridization methodology which includes the breeding at diploid, triploid and tetraploid levels. In recent years, because of the rapid development of biotechnology, it is possible to overcome such difficulties using new techniques. The objective of this paper is to discuss the various new approaches for banana improvement, including the use of meristem culture, embryo culture, somatic embryogenesis, another culture and cell fusion etc. for germplasm preservation, selection among somaclonal variation, mutation breeding, gene transfer and chromosomal recombination. In order to apply these new technologies for banana improvement, multi-disciplinary approach is the key to success.

*本文部分內容曾於 1991 年 12 月 15 日中國園藝學會 80 年年會發表。

**本文於民國 80 年 7 月 15 日收到。 Date received for publication: July 15, 1991.



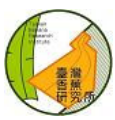
前言

食用香蕉為三倍體，具高度不稔性，果實的發育乃透過單性結實（parthenocarpy），故不結種子。因此，香蕉的增殖是以無性繁殖法（分株法）進行。傳統的香蕉品種改良倚賴兩種途徑：一為引種及選種。從外地引進合適的優良品種，或從自然突變中選出新的品種（line selection）。二為雜交育種。分三步驟進行：1.二倍體雜交改良：利用二倍體雜交種子，進行選拔具抗病（蟲）之優良二倍體供做父本。2.四倍體的選育：利用改良的二倍體為父本，與 Gros Michel 品系進行雜交，因 Gros Michel 的遺傳特異性染色體複合作用（chromosome restitution），產生四倍體種子，從中選取優良四倍體。3.三倍體選育：以選出的四倍體，與二倍體父本回交，育成三倍體^(35,36,38)。上述方法、步驟繁複、耗費龐大人力物力，雖經六十多年的努力，但成效不大。Stover 及 Buddenhagen 於 1986⁽⁴⁰⁾ 年對傳統香蕉育種曾作詳細報導及評述。他們認為傳統雜交方法必需倚靠 Gros Michel 作為母本，乃是一種「死胡同」的做法，成功機會不大。再者，他們進一步指出試管培養技術（in vitro technique）對香蕉育種具有發展潛力。

近年來，生物技術的發展日新月異，不少新技術及方法在不同作物，包括香蕉已被採用^(16,28)，本文報導近年來應用這些新技術來改良香蕉品種的研究成果，同時探討建立香蕉育種途徑的可行性。

種質資源的保存和交換

種質資源的收集、保存和利用乃是一切育種研究的基礎，需要花費不少人力、物力及時間從各地收集，因此，如何妥善保存非常重要。種源的保存，一般作物以種子進行，但大多數香蕉品種不具種子，即使產生種子，但不耐貯存或發芽率低。因此，田間保存成為常用的方法。惟田間保存佔地較大，管理不易，同時，易受天然災害或病蟲害侵襲，而至損失。自從莖頂組織培養成功之後，試管培養成為有效的保存方法。此法所需空間小，管理簡便，不受外在天然環境影響。再者，繁殖快速，便於品種測試比較。因此，試管保存已被廣泛採用。台灣香蕉研究所早於 1983 年即進行試管保存的研究，並在 1986 年建立試管種源保存庫，保存了 180 個品系。為了減少更換培養基的次數和保持組織幼苗的品種特性，Banerjee 及 De Langhe (1985)⁽⁸⁾ 嘗試以最低生長條件來保存不同香蕉品種。方法為採用改良 MS 培養基，內加 0.1 mg/l IAA 及 2.3mg/l BA，貯存於低溫（15℃）及弱光（1,000 lux）下。在這情況下，所有測試⁽²⁴⁾ 品種可保存 13~17 個月。本所以不同種類的糖溶液來作保存試驗，發現以 3 %核糖溶液，在 17℃ 溫度下，能保存華蕉品系達 21 個月之久。33 %的組織芽仍保持活力。當轉移至正常培養基即恢復生長能力。



最近，比利時魯汶大學 (Leuven University) 首次成功地以超低溫冷凍保存香蕉胚細胞⁽²³⁾。以液態氮保持於-196 °C 下的細胞，有 92 % 恢復生長，成為香蕉品種長期保存的新技術。以組織培養保存的種源具體積小，不帶病源及害蟲，繁殖迅速等優點，為理想的種源交換材料⁽¹⁹⁾。INIBAP 為國際鮮食蕉及煮食蕉研究協會，至 1989 年已在全球各地分設五個地區性支部及種源收集保存中心，並在歐洲「中立」地區成立種源轉輸中心 (transit center)，對一切洲際交換的種源，以組織培養苗寄往轉輸中心，經溫室種植，檢疫後，再以組織培養繁殖，送往目的地。此外，並於全球三個地方(法國，澳洲及菲律賓)設立病毒檢疫中心 (virus indexing centers) 加強檢疫措施，大大促進香蕉種源交換活動。

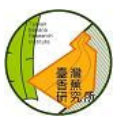
胚培養的應用

試管培養技術應用在香蕉品種改良的研究，最先為胚培養。在二倍體及四倍體雜交選育過程，授粉後所產生的種子量少，同時，種子的發芽率只有 10~20 % 左右，必須進行大量授粉工作，才能獲得足夠種子，進行篩選。Cox 等人早於 1960 年將 *M. balbisiana* 的胚經無菌培養，育成植株⁽¹⁰⁾。自此以後，胚培養成為香蕉雜交育種工作的一部分，以提高選育的效率。本所於 1980 年間，用 Abaca seedling 及 Ambon 進行胚培養，成功地誘導不定芽，癒傷組織及幼苗⁽⁴⁾。Vuylsteke 等⁽⁴³⁾指出，胚培養的成功率具季節性，在其研究的三個品種中，在雨季 (8~10 月) 授粉所形成的胚，誘導發芽率比在旱季 (1~3 月) 授粉者為佳。此外，雨季時授粉所獲的種子量又比旱季時差，在此狀況下利用胚培養更形重要。

莖頂組織培養的應用：品種評估與推廣

利用香蕉莖頂組織大量培養種苗為我國首先報導^(3,21)，其步驟分為：莖頂分生組織的分離，不定芽誘導及增殖，根的誘導、馴化、盆鉢假植及病毒檢疫，而獲得健康蕉苗。此法已被廣泛取用^(11,12,29,42)。香蕉研究所於近年來每年繁苗超過二百萬株。藉莖頂組織培養可在短期內獲得大量基因型相同的蕉苗，對品種比較試驗及推廣均有很大的幫助。加上組織培養蕉苗具有成活率高、生長整齊等優點，大大增加品種試驗的準確性。

理論上，一個莖頂在一年之中可繁殖千萬株組織培養苗，但據香蕉研究所的經驗，每個莖頂只適宜分切 6 至 7 代，約繁 2,000 至 4,000 株左右，可避免發生大量變異型 (offtype)，保持品種的純一性。此外，影響莖頂組織培養的因素有很多，除了培養基的成分、生長調節素的用量外，品種間的差異性及分切代數均影響繁苗的速度^(12,42)。為確保組織培養苗的健康，原始材料的病毒檢驗 (BBTV 及 CMV) 非常重要^(19,26)。



組織營養系變異 (somaclonal variation) 的應用

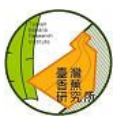
從不同報告中，組織營養系變異普遍存在於組織培養蕉苗^(6,15,44)。這些變異在品種保存及微體繁殖極為不利，但在香蕉品種改良上卻為可利用的途徑。從北蕉組織培養苗調查的結果，變異型約為 2~3 %⁽⁶⁾，而吸芽繁殖的植株中，幾乎沒有變異發生。從組織培養產生的變異，除葉綠素變異外，其他性狀均具遺傳性。Vuylsteke 等⁽⁴³⁾觀察 7 種 AAB 基因型的煮食蕉品種，組織營養系變異的發生頻率在 0.3 至 69.1 % 之間，變異發生率明顯與基因型有關。此外，他們認為組織營養系變異的發生與組織培養的時間及高濃度 BA 無關。據本所的觀察，組織營養系變異的發生與分切代數有明顯正相關⁽¹⁾。特別在分切至第十代以後，變異率顯著增加。Drew 及 Smith⁽¹⁵⁾比較華蕉 (Cavendish) 用兩種不同途徑培育的組織培養苗，並以傳統吸芽苗作田間比較試驗。發現經癒傷組織而培育的蕉株，變異率達 22 %，以莖頂側芽繁殖的蕉株變異率為 3 %，而以吸芽苗繁殖則無變異發生。可見，應用不同培養方法，組織營養系變異發生的頻率有明顯差異。值得研究者參考。

表 1 北蕉組織培養苗的變異頻率

Table 1. Frequency of offtypes from the tissue-cultured plantlets of Giant Cavendish

發生時期 Stage	調查株數 No. of plants	變異種類 Types of variant	百分率 % Percentoge
幼苗期 Young stage	30,000	葉綠素變異	0.25
		葉型變異	0.12
		合計 Subtotal	0.37
成株期 Mature stage	46,260	株型變異	1.44
		葉型變異	0.46
		假莖顏色變異	0.11
		果型變異	0.42
		合計 Subtotal	2.43

組織培養苗很早使用於香蕉黃葉病病性測定⁽⁴¹⁾。香蕉研究所於 1984 年開始積極



利用組織培養苗來選育抗黃葉病 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, Race 4) 品系^(20,22)。以假植後兩個月大的組織培養苗密植於重病蕉園 (每公頃 2 萬株)，四個月後，進行塊莖內部病徵檢查。若有褐化現象，便鑑定為感病而予以淘汰。無病徵者則保留繼續觀察測定。從三萬多株的北蕉組織培養苗中，以上法鑑定 10 個具抗病能力的品系，其中 5 個 (GCTCV-40, 44, 104, 105 及 119) 具高抗性，其餘 5 個 (GCTCV-46, 53, 62, 201 及 215) 則為中抗性。這些第一代的抗病品系均具不良園藝性狀，例如植株過高、生育期長、葉柄下垂、果房細小等。然而，再經組織培養繁殖，在第二代蕉苗中可選出具改良型的變異品系。利用以上步驟，於 1988 年選出 GCTCV-215-1。其園藝性狀與北蕉相似 (表 2)，具中度抗性。該品系已自 1990 年開始在本省南部黃葉病區種植。

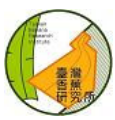
表 2 組織營養系變異品系 GCTCV-215-1 與北蕉園藝性狀及黃葉病發生率的比較⁽²⁰⁾
Table 2. Comparison of the agronomic traits and the occurrence of *Fusarium* wilt between the somaclonal variant GCTCV-215-1 and the normal Giant Cavendish

品系 Cultivar	株高 plant height (cm)	莖周 Pseudostem Circumference (cm)	生育週期 Growth cycle (mo)	單株產量 Bunch weight (kg)	感病率(%) Disease rate	
					組織苗 Plantlet	吸芽苗 Sucker
GCTCV-215-1	286	74	13-14	28.0	17.2	5.2
Giant Cavendish	277	881	12-13	27.7	74.6	77.8

擬原球體的誘導及耐鋁毒的誘變育種

高(1979)利用組織培養苗作香蕉的誘變育種⁽²⁾，惜於實際應用上未有深入研究。1987 年，日本 Mutsumoto⁽³¹⁾從香蕉側芽，經組織培養步驟成功地誘導小球形芽體組織稱之為擬原球體 (Protocorm-like body, PLB) 並於 1989⁽³⁰⁾年進一步利用 PLB 作伽瑪射線處理 (劑量 2KR)，並把處理過的 PLB 移至含有 10 mM 氯化鋁 (pH=4.6) 的液體培養基中進行耐鋁毒的變異篩選。篩選獲得 2 個 PLB 系，其中一個 (AL-1) 確定為耐鋁毒品系，能在含 2.5 mM 氯化鋁的培養基中繼續生長。經誘導後，把 AL-1 系，置於含氯化鋁的發根培養基中，AL-1 系的根群生長比對照旺盛，證明 AL-1 確具耐鋁毒特性。作者強調 PLB 具再生能力的優點而不具染色體遺失的缺點，非常適合誘變育種的應用。

體胚與細胞培養的應用



體胚培養在微組織繁殖，品種保存，遺傳及育種研究均具應用價值。因此，近年來，國內外對香蕉體胚培養的研究不遺餘力。表 3 乃列舉近年來香蕉體胚培養及植株再生的成功例子。

香蕉體胚培養可從合子胚 (zygotic embryo)，雄花頂生組織或組織培養苗的根莖及葉基組織誘導。誘導的途徑大致分為三種，1.從胚性癒傷組織直接分化成體胚，2.誘導胚性癒傷組織後，經細胞懸浮液培養增殖，然後再誘導體胚，3.直接把莖頂組織作細胞培養，先誘導胚性細胞然後再轉成體胚。體胚發生的成功，提供香蕉微體繁殖一條新途徑。同時，在品種改良上具有很大的應用價值。圖 1 表示體胚培養在變異篩選或誘變育種上的應用。其實用性值得深入研究探討。

表 3 香蕉體胚培養成功例子

Table 3. Examples of somatic embryogenesis in bananas

文獻 Sources	品種 Variety/Group	原始材料 Material	步驟 Procedure
1.Cronauer and Krikorin 1988	M. ornata	zygotic embryo	A*
2.Escalent and Teisan 1988	M. accuminata, x M. balbisiana	zygotic embryo	A
3.Escalent and Teisan 1989	M. accuminata, M. balbisiana	zygotic embryo	A
4.Ma 1988	AA, AAA, AAB	floral meristem	B
5.Novak et al 1989	AA,AAA,ABB	rhizome basal leaf sheath	B
6.Dheda and Panis 1991	BB,ABB	shoot tip	C

*A : explant→callus→somatic embryo→plantlet

B : explant→callus→cell culture→somatic embryo→plantlet

C : explant→cell culture→somatic embryo→plantlet

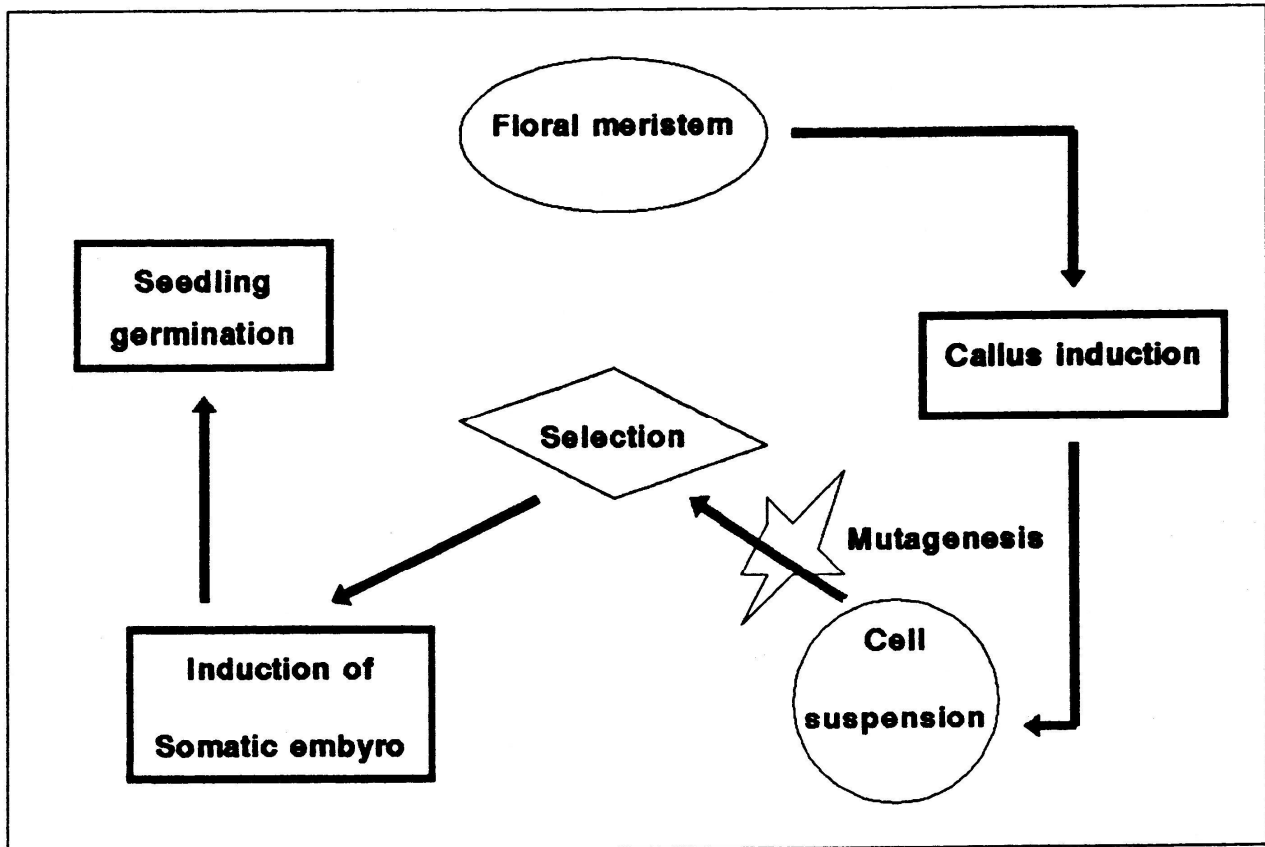


Fig. 1 Application of somatic embryogenesis in banana improvement

圖 1. 體胚培養在香蕉育種上的應用

基因轉移的應用

基因轉移為近年來生物技術研究的熱門課題，對植物育種的實際應用具有巨大潛力。Murfett 及 Clarke⁽³²⁾於 1986 年詳細探討遺傳工程在香蕉抗病育種的可能性。他們建議利用在農桿菌 (*Agrobacterium*) 內的 Ti-質體來作基因轉移之載體。其方法包括三個主要步驟：1.利用大腸桿菌 (*E. coli*) 作基因增殖，做成攜有外來 DNA 的 Ti-質體，2.把攜有外來 DNA 的 Ti-質體利用無性接合轉移到農桿菌的細胞，3.藉農桿菌，把 Ti-質體轉移到高等植物的細胞內，並嵌入植物的基因組 (genome)。他們建議利用基因轉移來作抗黃葉病選育。在應用這些新技術之前，必須先了解抗黃葉病的分子遺傳機制，並建立以農桿菌為攜帶體 (vector) 的轉移系統。此外，經轉移的細胞，必須能夠再生植株。要克服這些困難必須靠各方合作，共同研究。

此外，植物遺傳工程在病毒防治上的應用極其可行。例如把製造病毒鞘蛋白的基因增殖，藉間接或直接的轉移系統，輸入香蕉細胞的基因組，使能抗拒病毒的入侵。此研究已在澳洲積極進行。澳洲研究工作者期望把 BBTV (萎縮病毒) 的鞘蛋白基因，經增殖後，以 DNA 槍打入香蕉細胞⁽⁹⁾，使再生之植株具有抗病毒能力。

染色體組的重組—花藥培養與細胞融合的應用

香蕉雜交育種的障礙為染色體三倍性及不稔性。近年來，以花藥培養產生單倍體已在多種作物育種上應用，例如水稻、小麥及煙草等，加速純系及自交系的選育過程。同時細胞或原生質體融合也在不同作物研究成功，使原來不能以正常受精作用來進行基因重組的作物，透過細胞融合成為可能。圖 2 表示利用花藥培養及細胞融合來達到香蕉染色體組重組的可行途徑，藉以達到品種改良的目的。理論上，以兩倍體或四倍體的花藥為材料，經培養可產生不同的單倍體或兩倍體細胞系 (cell lines)，使與正常兩倍體或三倍體的細胞系經細胞融合成新的三倍體或四倍體組合，並進而再生成為植株供選擇之用。這樣的系統可以克服香蕉不稔性的障礙，並可應用傳統育種的理論和方法，進行輪迴選擇，漸漸把有利基因累積成為新品種。同時，可廣泛利用不同的種質資源，使香蕉的遺傳多樣性 (diversity) 大為增加。

有關香蕉花藥培養及細胞融合的文獻很少。香蕉研究所與台灣大學曾於 1982~83 年間合力探討香蕉花藥培養的研究，惜未能成功。直至最近，在巴拿馬的研究工作者從二倍體香蕉的花藥，誘導出癒傷組織。最近本所以三倍體為材料，進行花藥培養的初步探討，經數星期培養後，可見到大量鬆散的癒傷組織從花藥上形成。從外面觀察，這些癒傷組織極可能是從花藥壁發育而成，有待進一步求證。

至於香蕉的原生質體融合，陳等曾作報導⁽⁵⁾。他們從兩個品種 (*M. cavendishii* 及 *M. accuminata*) 的組織培養苗葉片，分離出原生質體並以 PEG 促進原生質體融合。在顯微鏡下觀察，出現多核現象 (表 4) 證明香蕉原生質體融合的可行性。

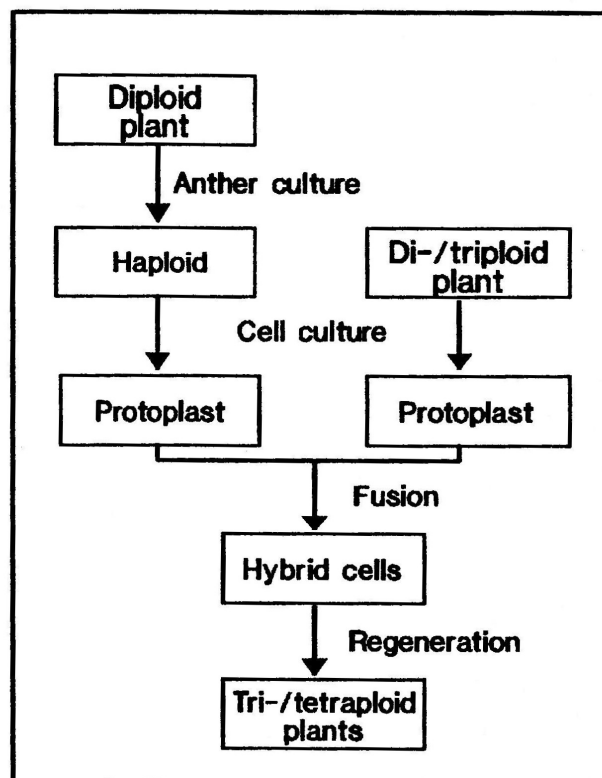


Fig. 2 Application of anther culture and cell fusion in banana breeding

圖 2. 花藥培養及細胞融合在香蕉育種上的應用

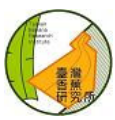


表 4 北蕉 *Musa cavendishii* L. 與 *M. accuminata* 新分離葉片原生質體及其經 Polyethylene glycol 促融後原生質體之多核細胞頻率⁽⁵⁾

Table 4. Frequency of multinuclear cells in freshly isolated leaf protoplasts of *Musa cavendishii* L. cv. North banana and *M. accuminata*, and their fused protoplasts by polyethylene glycol treatment

原生質體細胞核數 Protoplast nuclei	頻率(Frequency,%)		
	<i>M. cavendishii</i>	<i>M. accuminata</i> (PEG. treat.)	<i>M. cavendishii</i> + <i>M. accuminata</i>
1	99.16	99.30	73.65
2	0.67	0.54	3.29
3	0.10	0.13	1.55
>4	0.07	0.03	21.51

* 此為大於 4 個原生質體細胞核數

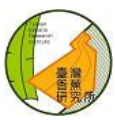
然而，多年來未有進一步的研究報告，推測問題的存在不在細胞融合，而是原生質體的培養及再生植株的能力。許等⁽³⁷⁾報導香蕉原生質體的分離培養。經 4~6 週的培養，原生質體的活力仍可維持 40 % 左右。並有細胞分裂及細胞壁形成的現象，惜仍未能達到植株再生的階段。有關香蕉原生質體的分離與培養，Bakry⁽⁷⁾及 Krikorian⁽²⁵⁾也曾報導。未來從香蕉原生質體再生植株的技術有待建立。

結論與建議

香蕉因其遺傳上的特性，阻礙了傳統雜交育種的進展。雖經多年來的努力，仍未能有所突破。因此尋求新技術，新途徑的育種方法對香蕉的品種改良特別重要。隨生物科技的迅速發展，細胞及組織培養技術日趨成熟，已漸漸應用於香蕉品種改良的研究上，應用的範圍包括品種保存及交換，雜交胚的試管培養，組織培養系變異在抗病品系的篩選及利用 PLB 進行耐鋁毒的篩選等。至於基因轉移的技術，在香蕉品種改良的應用亦很有潛力。要使用這些新技術，必須加強有關分子生物學的研究，鑑定有用的基因，發展出一套轉移系統，並找出單細胞再生的培養技術，須賴不同專長的研究工作者通力合作，共同研究。

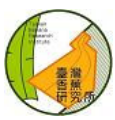
有關利用花藥培養及細胞融合的技術來做染色體組的重組，目前仍處在假設的階段。因單倍體的誘導及原生質的培養與再生技術，仍在起步階段，極須加強研究。若兩者均能成功，對香蕉品種改良將會有很大的幫助。

多年來我國在香蕉組織培養的發展及應用已有優異成果。寄望有關單位加強合作，繼續努力，尋求突破，為香蕉品種改良發展一條新捷徑。

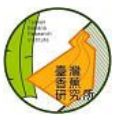


參考文獻

- 1.李淑英、戴奇協、朱慶國. 1988. 北蕉不定芽分切代數對變異之影響(摘要). 中國園藝 34(4):321.
- 2.高典林. 1979. 伽瑪射線誘發香蕉突變育種之研究. 中國園藝 25:197-206.
- 3.馬溯軒、許圳塗. 1972. 香蕉幼莖切頂組織培養應用於不定芽誘發研究. 中國園藝 18:135-42.
- 4.孫櫻芳. 1984. Abaca Seedling 及 Ambon 香蕉的胚培養. 中國園藝 30:187-195.
- 5.陳文輝、古如琦. 1985. 香蕉葉內單細胞及原生質體分離與原生質體之融合培養. 中華農學會報 新 129:56-66.
- 6.黃新川. 1986. 香蕉組織培養植株之變異. 中國園藝 32:117-125.
- 7.Bakry, F. 1984. Choix du materiel a utiliser pour l'isolement de protoplastes de bananier (Musa spp.) Musacees. Fruits (Paris) 39:449-452.
- 8.Banerjee, N. and E. De Langhe. 1985. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of Musa (banana and plantain). Plant Cell Reports 4:351-354.
- 9.BGF 1991. DNA guns may be bunchy top answer.BGF Bulletin 55(9):5
- 10.Cox, E. A., G. Stotzky and R. D. Goos. 1960. In vitro culture of Musa balbisiana Colla embryos.Nature 4710:403-404.
- 11.Cronauer, S. S. and A. D. Krikorian. 1984. Multiplication of Musa from excised stem tips.Annuals of Botany 53:321-328.
- 12.Cronauer, S. S. and A. D. Krikorian. 1984. Rapid multiplication of bananas and plantains by in vitro shoot tip culture. HortScience 19(2):234-235.
- 13.Cronauer, S. S. and A. D. Krikorian. 1988. Plant regeneration via somatic embryogenesis in the seeded diploid banana Musa ornata Roxb. Plant Cell Reports 7:23-25.
- 14.Dheda, D. and B. J. Panis. 1991. Cell suspension culture and somatic embryogenesis in Musa.Banana Newsletter 14:12-15.
- 15.Drew, R. A. and M. K. Smith. 1990. Field evaluation of tissue-cultured bananas in South-eastern Queensland. Australian Journal of Experimental Agriculture 30:569-574.
- 16.Dudits, D. 1987. New approaches to genetic manipulation of plants. pp.139-152. In: I.K. Vasil (ed.) Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Vol.4. Academic Press, Orlando.
- 17.Escalant, J. V. and C. Teisson. 1988. Somatic embryogenesis in Musa sp.C. R. Acad. Sci. Paris. 306(3):277-281.
- 18.Escalant, J. V. and C. Teisson. 1989. Somatic embryogenesis and plants from immature zygotic embryos of the species Musa acuminata and Musa balbisiana.Plant Cell Reports 7:665-668.
- 19.Frison, E. A. and C. A. J. Putter (eds.)1989. FAO/IBPGR Technical Guidelines for the Safe Movement of Musa Germplasm.FAO and IBPGR, Rome.
- 20.Hwang, S. C. 1991. Somaclonal resistance in Cavendish banana to Fusarium wilt.Plant Prot. Bull. (Taiwan)33:124-132.
- 21.Hwang, S. C., C. L. Chen, J. C. Lin, and H. L. Lin. 1984. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. HortScience 19(2):231-233.



- 22.Hwang, S. C. and W. H. Ko. 1988. Mutants of Cavendish banana resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. Plant Prot. Bull. (Taiwan). 30:380-392.
- 23.IBPGR. 1990. Banana cells at -196°C. Geneflow News, IBPGR Rome.
- 24.Ko, W. H., S. C. Hwang and F. M. Ku. 1991. A new technique for storage of meristem-tip culture of 'Cavendish' banana. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 25:179-183.
- 25.Krikorian, A. D. 1986. Callus and Cell culture, somatic embryogenesis, androgenesis and related techniques for Musa improvement. pp.128-135. In: G. J. Persley and E.A. De Langhe 1987.Banana and Plantain Breeding Strategies. ACIAR. Canberra.
- 26.Krikorian, A. D. 1990. Baseline tissue and cell culture studies for use in banana improvement schemes.pp.127-133 In: R. C. Ploetz (ed.) *Fusarium Wilt of Bananas*. APS. St. Paul.
- 27.Ma, S. S. 1988. Somatic embryogenesis and plant regeneration of banana. pp.181-188. In : S. S. Ma, et al (ed.). 1991. *Proceedings of a Symposium on Tissue Culture of Horticultural crops*. National Taiwan University, Taipei.
- 28.Ma, S. S. and Shii, C.T. 1988. Regeneration in propagation and improvement of plants. pp.1-18. In : S.S. Ma, et al (ed.)1991. *Proceedings of a Symposium on Tissue Culture of Horticultural Crops*. National Taiwan University, Taipei.
- 29.Mateille, T. and B. Foncelle. 1988. Micropropagation of Musa AAA cv. Poyo in the Ivory Coast.Trop. Agric. (Trinidad)65(4):325-328.
- 30.Matsumoto, K. and H. Yamaguchi. 1990. Selection of aluminium-tolerant variants from irradiated protocorm-like bodies in banana.Trop. Agric. (Trinidad). 67(3):229-232.
- 31.Matsumoto, K., H. Yamaguchi, S. Tano, and A.Tatara. 1987. Induction of protocorm-like body and its growth inhibition by L-hydroxyproline in a banana.Environ. Control in Biol. 25:63-66.
- 32.Murfett, J. and A. Clarke. 1986. Producing disease-resistant Musa cultivars by genetic engineering. pp.87-93. In: G. J. Persley and E. A. De Langhe (eds.) 1987. *Banana and Plantain Breeding Strategies*. ACIAR, Canberra.
- 33.Novak, F. J., R. Afza, M. Van Duren, M. Perea-Dallos, B. V. Conger, and Tang Xiaolang. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspension cultures of dessert (AA and AAA) and cooking (ABB) bananas (*Musa* spp.).*Biotechnology* 7:154-159.
- 34.Pons, S. 1989. Contribution to the study of callus induction from Musa anthers. (Abs.)Congress Cientifico Nacional, 6, Panama. p.21.
- 35.Rowe, P. R. 1984. Breeding bananas and plantains.Plant Breeding Reviews 2:135-155.
- 36.Rowe, P. R. and D. L. Richardson. 1975. Breeding bananas for disease resistance, fruit quality and yield. Bull.2. Tropical Agriculture Research Services, La Lima, Honduras.
- 37.Shii, C. T., et al. 1988. Studies on protoplast isolation and culture of banana. pp.158-172. In: S.S. Ma, et al (ed.) 1991. *Proceedings of a Symposium on Tissue Culture of Horticultural Crops*. National Taiwan University, Taipei.
- 38.Simmonds, N. W. 1976. Bananas. pp.211-215. In: N.W. Simmonds (ed.). *The Evolution of Crop Plants*. Longmans, London.
39. Smith, M. K. 1988. A review of factors



- influencing the genetic stability of micropropagated bananas. *Fruits* 43(4):219-223.
40. Stover, R. H. and I. W. Buddenhagen. 1986. Banana breeding: polyploidy, disease resistance and productivity. *Fruits* 41(3):175-191.
41. Sun, E. J. and H. J. Su. 1984. Rapid method for determining differential pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using banana plantlets. *Trop. Agric. (Trinidad)*. 61:7-8.
42. Vuylsteke, D. and E. De Langhe. 1985. Feasibility of in vitro propagation of bananas and plantains. *Trop. Agric.* 62(4):323-328.
43. Vuylsteke, D., R. Swennen and E. De Langhe. 1990. Tissue culture technology for the improvement of African Plantains. pp.316-337. In : *Sigatoka Leaf Spot Diseases of Bananas-Proceedings of an International Workshop*. INIBAP.
44. Vuylsteke, D., R. Swennen, G. F. Wilson and E. De Langhe. 1988. Phenotypic variation among in vitro propagated plantain (*Musa* sp. cultivar 'AAB'). *Scientia Horticulturae* 36:79-88.