

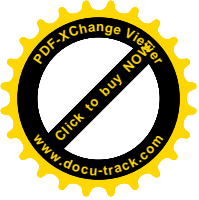
4.3.2 Evaluación en campo de caracteres morfológicos y agronómicos de las plantas

A los seis meses después de la plantación, no se observaron diferencias fenotípicas entre las aproximadamente 10 000 plantas que integraron las tres poblaciones. A ese tiempo de cultivo se pudo apreciar gran uniformidad entre las poblaciones con respecto al hábito foliar (crecimiento decumbente) (Figura 24 A), aspecto del pseudotallo (verde claro con manchas oscuras en la base del pecíolo) (Figura 24 B) y morfología de los márgenes del pecíolo (color de rosado a rojo, curvados hacia adentro envolviendo el pseudotallo) (Figura 24 C). Estas características fenotípicas mostradas por las plantas coincidieron con la descripción técnica detallada por la FHIA (2002) para este cultivar y los estudios realizados por Álvarez y Rosales (2008).



Figura 24. Población de plantas del cv. de plátano ‘FHIA-21’ (*Musa* AAAB), regeneradas por embriogénesis somática, a los 6 meses de plantadas en campo. (A) Plantas con hábito foliar decumbente, (B) pseudotallo verde claro con manchas oscuras en la base del pecíolo y (C) márgenes del pecíolo curvados hacia adentro.

A los 10 meses de cultivo, alrededor del 50% de las plantas en las diferentes poblaciones emitieron la inflorescencia. Las plantas procedentes de embriones somáticos mostraron características morfológicas similares a las plantas obtenidas por organogénesis, con respecto a la altura y circunferencia del pseudotallo. Para estas variables, ambas poblaciones presentaron diferencias significativas cuando se compararon con las plantas



obtenidas de semilla asexual. Por otra parte, el número de hojas funcionales por planta a la floración fue significativamente diferente entre las poblaciones correspondientes a cada sistema de propagación (Tabla 9).

Tabla 9. Características morfológicas de plantas obtenidas por embriogénesis somática, organogénesis y semilla asexual del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*), a los 10 meses de plantadas en campo.

Sistema de regeneración	Altura de la planta (m)		Circunferencia del pseudotallo (cm)		Hojas funcionales	
	Medias±EE	Rangos medios	Medias±EE	Rangos medios	Medias±EE	Rangos medios
Embriogénesis somática	3,31±0,01	47,35 a	59,77±0,22	37,08 a	9,4	43,6 a
Organogénesis	3,23±0,08	47,21 a	58,86±0,19	36,52 a	8,4	33,6 b
Semilla asexual	2,63±0,01	37,63 b	49,67±0,29	30,82 b	7,2	17,4 c
CV	0,055%		5,355%		0,149%	

Rangos medios con letras distintas en una columna difieren significativamente según la prueba Student Newman Keuls, para $p \leq 0,05$. (Medias \pm error estándar (EE); CV: coeficiente de variación)

En observaciones realizadas, a los 10 meses de cultivo, se identificaron dos plantas fuera de tipo o con cambios fenotípicos en la población que se obtuvo por embriogénesis somática. Estas plantas mostraron una menor altura, pseudotallo delgado y hojas anchas (Figura 25). Este tipo de variante morfológica relacionada con la altura se conoce como planta tipo 'Grele' y fue descrita por Sandoval *et al.* (1997) en plantas de banano cv. 'Grande Naine' (*Musa AAA*) propagadas por organogénesis. En las poblaciones que se obtuvieron por organogénesis y semilla asexual no se observaron plantas con cambios fenotípicos.

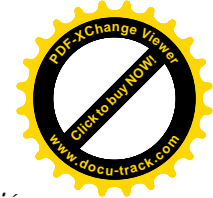
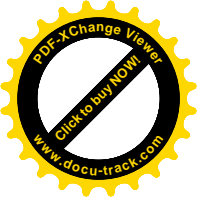


Figura 25. Planta con cambio fenotípico de tipo 'Grele' del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*) obtenida por embriogénesis somática, a los 10 meses de plantadas en campo.

De manera general, la evaluación de las características morfológicas durante la floración (Figura 26 A) indicaron plantas vigorosas con crecimiento uniforme en las poblaciones procedentes del cultivo *in vitro*. En la figura 26 B se muestra la homogeneidad de las plantas regeneradas por embriogénesis somática, a los 10 meses de cultivo en campo.



Figura 26. Población de plantas del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*) obtenidas por embriogénesis somática, a los 10 meses de plantadas en campo. (A) Planta con exposición de la inflorescencia. (B) Homogeneidad de las plantas.



A los 14 meses de cultivo se observó la culminación del llenado de los racimos con el amarillamiento de algunos frutos. La evaluación de los caracteres agronómicos no mostró diferencias significativas entre las plantas procedentes del cultivo *in vitro*; pero sí con respecto a las plantas de semilla asexual. En este sentido, se obtuvo mayor peso neto del racimo, número de manos por racimo, número de frutos por racimo, longitud y circunferencia del fruto central de la segunda mano en las plantas que se obtuvieron por cultivo *in vitro* (organogénesis y embriogénesis somática). En la cosecha, el número de hojas funcionales en las plantas regeneradas por embriogénesis somática fue mayor con diferencias significativas respecto a las plantas procedentes de organogénesis y semilla asexual (Tabla 10).

Tabla 10. Caracteres agronómicos y número de hojas funcionales en plantas regeneradas por embriogénesis somática, organogénesis y semilla asexual del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*), a los 14 meses de plantadas en campo.

Características agronómicas	Embriogénesis somática		Organogénesis		Semilla asexual	
	Medias±EE	Rangos medios	Medias±EE	Rangos medios	Medias±EE	Rangos medios
Peso del racimo (kg)	26,80±1,00	28,35 a	26,10±0,99	26,41 a	22,84±1,10	12,30 b
Manos por racimo	7,76±1,13	29,07 a	7,58±0,11	29,20 a	6,20±0,15	10,87 b
Frutos por racimo	82,93±1,71	29,25 a	78,20±1,84	27,41 a	63,86±2,32	10,50 b
Longitud del fruto (cm)	26,30±0,24	27,41 a	25,60±0,22	28,52 a	23,40±0,27	12,40 b
Circunferencia del fruto (cm)	15,60±0,12	28,63 a	14,80±0,10	24,21 a	13,20±0,11	11,22 b
Número de hojas funcionales	6,90±0,19	26,05 a	5,60±0,16	16,90 b	5,70±0,17	18,92 b

Rangos medios con letras distintas en una fila difieren significativamente según la prueba Student Newman Keuls, para $p \leq 0,05$. (Medias ± error estándar (EE))

Las observaciones realizadas a los 14 meses de cultivo mostraron gran uniformidad entre las poblaciones con respecto a la apariencia de los racimos. Las plantas presentaron racimos compactos con frutos de color verde claro, curvado hacia arriba y rectos en la región discal (Figura 27 A); conforme a la descripción de la FHIA (2002). Sin embargo, cuatro plantas regeneradas por embriogénesis somática mostraron cambios morfológicos en la posición de los frutos en la mano (Figura 27 B). Estas variaciones no afectaron las características agronómicas de las plantas. Los valores registrados en las diferentes variables agronómicas se encontraban en los rangos normales de producción descritos para este cultivar por Álvarez y Rosales (2008).

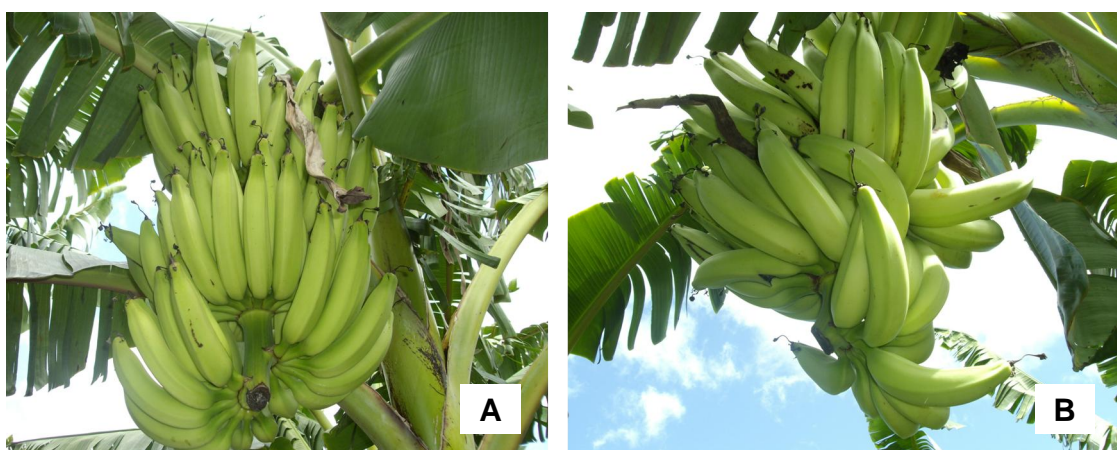
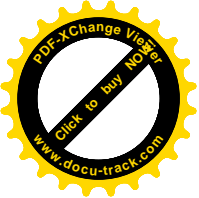


Figura 27. Plantas con racimos del cv. de plátano ‘FHIA-21’ (*Musa* AAAB) obtenidas por embriogénesis somática a los 14 meses de plantadas en campo. (A). Posición normal de los frutos en las manos. (B) Variación en la posición de los frutos en las manos.

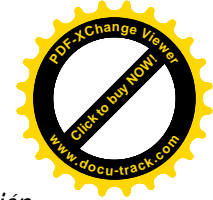
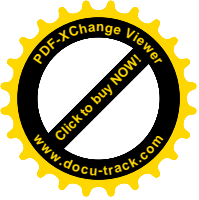
La incidencia total de plantas con cambios fenotípicos detectables en campo representó solamente el 0,095% de las plantas regeneradas por embriogénesis somática del cv. de plátano ‘FHIA-21’. Estas correspondieron a dos plantas tipo ‘Grele’ y cuatro plantas con cambios en la posición de los frutos en el racimo. En las poblaciones procedentes de organogénesis y semilla asexual no se observó la presencia de plantas con cambios fenotípicos.



La evaluación de los caracteres morfológicos y agronómicos no mostró diferencias significativas entre las poblaciones que se obtuvieron del cultivo *in vitro* (organogénesis y embriogénesis somática). En siete de las variables que se evaluaron ambas poblaciones presentaron valores significativamente superiores a los obtenidos en las plantas procedentes de semilla asexual. Estas diferencias pueden estar asociadas al rejuvenecimiento adquirido durante el cultivo *in vitro*. Similar resultado fue descrito por Kosky *et al.* (2006) en plantas del banano cv. 'FHIA-18' procedentes de embriones somáticos y de organogénesis.

En la literatura científica existen pocos estudios concernientes a la evaluación en campo de cultivares de plátanos propagados por embriogénesis somática. Por ejemplo, Côte *et al.* (2000) no observaron cambios fenotípicos durante la evaluación de 500 plantas de 'Grande Naine' (*Musa* AAA) que se regeneraron partir de suspensiones celulares embriogénicas. Estas plantas mostraron similar respuesta agronómica que las plantas procedentes de organogénesis, sin diferencias significativas en ocho de las once variables que analizaron.

Al respecto, López *et al.* (2005), durante la evaluación en campo de 1 000 plantas del cv. 'Navolean' (*Musa* ABB) relacionaron la incidencia de variación somaclonal con el tipo de explante inicial utilizado en el proceso de embriogénesis somática. Las plantas procedentes de embriones somáticos donde el explante inicial habían sido ápices de brotes axilares mostraron menor porcentaje de plantas con cambios fenotípicos (1,1%) que las plantas regeneradas de embriones somáticos obtenidos de *scalps* (multiyemas) como explante inicial (8,6%). El mayor número de plantas con cambios fenotípicos se observó en la cosecha, con variaciones en la posición de las manos en el racimo, correspondiente a una regresión de tipo 'French'. No obstante, estos autores al evaluar las características del racimo, como componente principal del rendimiento, describen una

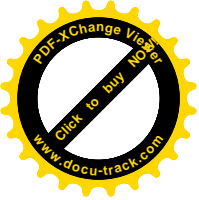


respuesta agronómica similar entre las plantas de ambas procedencias y significativamente superior a las plantas procedentes de semilla asexual. Posteriormente, Kosky *et al.* (2006) informaron 0,2% de plantas con retardo del crecimiento (enanas) en 1500 plantas del cv. 'FHIA-18' regeneradas de embriones somáticos cultivados en biorreactores.

Como se ha descrito existen diferencias con respecto al porcentaje de plantas con cambios fenotípicos y el tipo de cambio que se presenta en las plantas regeneradas por embriogénesis somática. Estos aspectos han sido relacionados con el genotipo, explante inicial y las condiciones de cultivo *in vitro*. Hasta el momento el porcentaje de plantas con cambios que ha sido admisible en campo es de 1,0 a 5,0% en plantas propagadas por organogénesis, según el criterio de Côte *et al.* (1993).

En este sentido, Côte *et al.* (2000) señalaron que el impacto de la embriogénesis somática en la propagación masiva de plantas requiere de experimentos de campo a gran escala. Las plantas propagadas por embriogénesis somática del cv. 'FHIA-21' constituyen hasta el presente la mayor población (6 252) evaluada en campo, según la literatura internacional consultada.

Un aspecto importante a destacar es que las plantas obtenidas por embriogénesis somática durante la floración y en la cosecha mostraron mayor número de hojas funcionales, con diferencias significativas respecto a las plantas de organogénesis y semilla asexual (Tabla 9 y 10). Según Martínez *et al.* (1984) esta variable presenta una relación positiva entre su valor y el desarrollo del racimo. Como mínimo ocho hojas funcionales son necesarias en la floración para obtener un mejor desarrollo del fruto (Álvarez, 1997). En este estudio, las plantas procedentes del cultivo *in vitro* presentaron un promedio de 9,4 (embriogénesis somática) y 8,4 (organogénesis) hojas funcionales a la



floración, lo cual tuvo un efecto definitorio en la respuesta de las variables agronómicas en ambas poblaciones.

Por otra parte, el número de hojas funcionales se considera un indicador de tolerancia o susceptibilidad a la enfermedad Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) (Álvarez, 1997). A pesar de que el cv. de plátano 'FHIA-21' se considera un genotipo resistente a este patógeno se ha observado la incidencia de la enfermedad al finalizar el periodo de cultivo, durante el llenado del racimo (Orellana *et al.*, 1999). Sin embargo, en el presente estudio se encontró que las plantas obtenidas por embriogénesis somática presentaron mayor número de hojas funcionales tanto en la floración como en la cosecha. En este sentido, los resultados de Huang *et al.* (2010) presuponen una relación entre el proceso de embriogénesis somática y la respuesta a la resistencia de enfermedades. No obstante, se requieren otros estudios para profundizar en este aspecto.

Los resultados en campo de las plantas regeneradas por embriogénesis somática del cv. 'FHIA-21' mostraron baja incidencia de plantas con cambios fenotípicos (0,095%). Además se observó una mejor respuesta morfológica y agronómica en plantas provenientes del cultivo *in vitro*, con respecto a las plantas originadas de semilla asexual.

4.3.3 Análisis molecular de la estabilidad genética

Los resultados de la técnica de AFLP mostraron un total de 420 bandas claramente separadas, con un promedio de 70,0 bandas por cada combinación de cebadores analizada (Tabla 11). En este estudio, el total de las bandas que se cuantificaron fueron monomórficas, por tanto la distancia filogenética estimada fue de 0,0. Este análisis indica que no existieron diferencias a nivel molecular entre las poblaciones de plantas regeneradas por embriogénesis somática, organogénesis y semilla asexual, para las

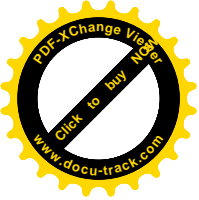
combinaciones de cebadores analizadas. En la figura 28 se muestra un ejemplo de los patrones obtenidos con la combinación de cebadores E-AAG/M-CAA.

Tabla 11. Resultados obtenidos por AFLP utilizando combinaciones de cebadores *EcoRI* y *Mru9I*, en muestras de plantas regeneradas por embriogénesis somática, organogénesis y semilla asexual del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*).

Combinación de cebadores	Total de bandas	Embriogénesis somática	Organogénesis	Semilla asexual
E-AAT/M-ACA	58			
E-AGG/M-AGT	68			
E-ACA/M-ATG	70			
E-AAG/M-CAA	82			
E-AAA/M-TTA	76			
E-CGG/M-ATT	66			
Total	420			

Figura 28. Patrón electroforético obtenido mediante la técnica de AFLP con la combinación de cebadores E-AAG/M-CAA en muestras de plantas del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*), regeneradas por embriogénesis somática, organogénesis y semilla asexual.

A nivel molecular no se encontraron diferencias entre las plantas de tipo 'Grele' y el resto de las muestras analizadas. Esta evidencia molecular no puede ser conclusiva porque los marcadores AFLP amplifican determinados sitios del genoma. Aunque, los estudios morfológicos de estabilidad genética en plantas de banano cv. 'Grande Naine' (*Musa*

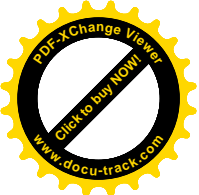


AAA) realizados por Sandoval *et al.* (1997) mostraron que la variante 'Grele' parecía ser un caso de variación epigenética.

En plátanos y bananos, varios autores han intentado identificar y medir el nivel de variación somaclonal generada por el cultivo *in vitro* utilizando diferentes tipos de técnicas moleculares. Sin embargo, pocos estudios han sido capaces de correlacionar las alteraciones moleculares con la respuesta fenotípica de la planta. Por ejemplo, Engelborghs *et al.* (1998) mediante el uso de marcadores del tipo AFLP encontraron polimorfismo entre plantas normales de 'Curare Enano' (*Musa* ABB) y plantas anormales de tamaño mediano.

Otras técnicas moleculares han sido utilizadas para detectar variantes somaclonales inducidas por el cultivo de tejidos del género *Musa*. Por ejemplo, Harirah y Khalid (2006) utilizaron la técnica RAPD (del inglés, *Random Amplified Polymorphic DNA*) para conocer la estabilidad genética de plantas *in vitro* de *Musa acuminata* cv. 'Berangan', micropropagadas a partir de flores masculinas. Estos autores obtuvieron perfiles monomórficos y concluyeron que la micropropagación a partir de flores masculinas no produce variación somaclonal.

El uso combinado de dos técnicas moleculares para el estudio de la variación somaclonal es una de las estrategias que se ha seguido para examinar un mayor porcentaje de sitios del genoma. Venkatachalam *et al.* (2007) utilizaron marcadores de tipo RAPD e ISSR (del inglés, *Inter-Simple Sequence Repeats*) para examinar la variación genética en plantas micropropagadas por 10 años del banano cv. Nanjanagudu Rasabale (*Musa* AA). Estos autores obtuvieron patrones de bandeo muy uniformes y no observaron bandas polimórficas en el análisis de las muestras, en el que se incluyeron las plantas con diferentes características morfológicas. Las evidencias experimentales, en el género



Musa, indican que el mecanismo de la variación somaclonal a nivel molecular sigue siendo un enigma hasta ahora no resuelto por la comunidad científica.

Los resultados logrados con los marcadores moleculares AFLP para las combinaciones de cebadores estudiadas no indicaron variaciones genéticas entre y dentro de las tres poblaciones de plantas del cv. de plátano 'FHIA-21' obtenidas por embriogénesis somática, organogénesis y semilla asexual. La comprobación a nivel molecular de los resultados de la evaluación en campo, permiten validar el empleo de la embriogénesis somática para la propagación *in vitro* de este cultivar.

Con base en los resultados se puede plantear que se logró establecer un protocolo para la propagación *in vitro* del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa* AAAB) por embriogénesis somática utilizando medios de cultivo líquido. Este comprende desde la selección del explante inicial, determinación de las densidades de inoculación para la formación y maduración de los embriones somáticos en medio de cultivo líquido hasta la germinación y plantación en casa de cultivo y campo (Figura 29).

La investigación brinda aspectos importantes sobre el modelo de desarrollo morfogénico que sostiene la regeneración de plantas por embriogénesis somática en *Musa* spp. La selección del explante inicial contribuyó a incrementar el porcentaje de callos con estructuras embriogénicas (8,7%) y su clasificación fue especialmente significativa para aumentar el porcentaje de suspensiones celulares embriogénicas establecidas (85,0%). Adicionalmente, el estudio morfológico e histológico de los embriones somáticos en medio de cultivo líquido permitió determinar la densidad de inoculación que posibilitó la mayor sincronización en las fases de formación y maduración de los embriones somáticos, con un aumento de la germinación y formación de plantas completas. La caracterización morfológica, agronómica y molecular de las plantas mostró la presencia de un bajo porcentaje de variación somaclonal y favorable respuesta de las variables agronómicas.

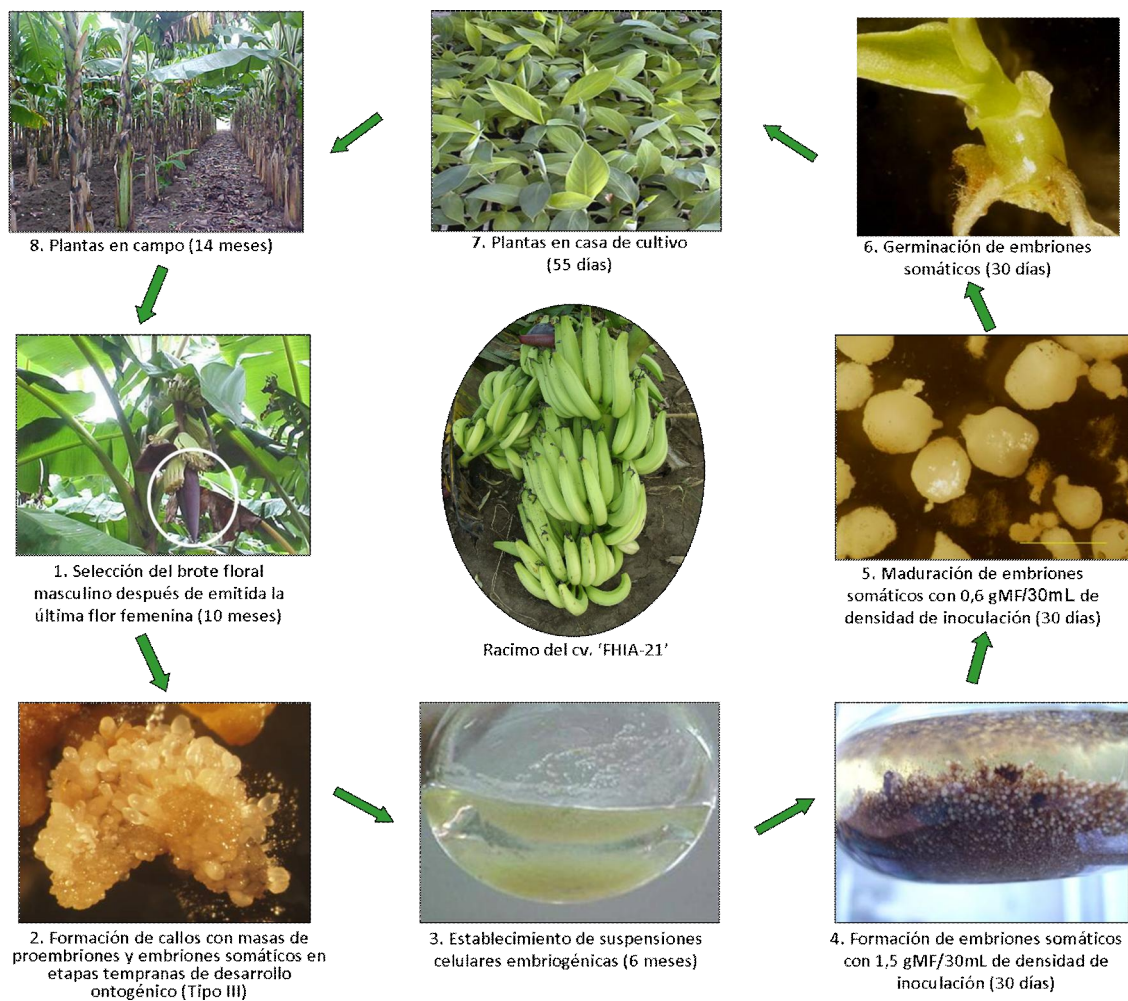
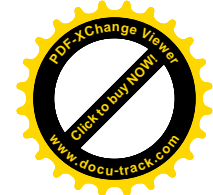
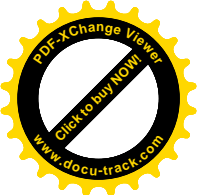


Figura 29. Esquema del protocolo de embriogénesis somática para la propagación *in vitro* del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*) utilizando medios de cultivo líquido.



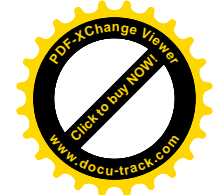
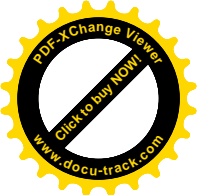
5. CONCLUSIONES

1. A partir de los resultados estableció un protocolo para la propagación *in vitro* del cv. de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*) por embriogénesis somática utilizando medios de cultivo líquido. Este comprendió desde la selección del explante inicial, determinación de las densidades de inoculación para la formación y maduración de los embriones somáticos en medio de cultivo líquido hasta la germinación y plantación en casa de cultivo y campo.

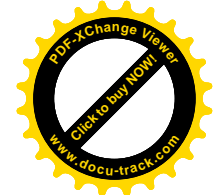
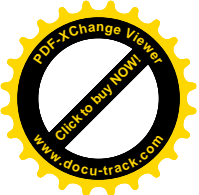
2. Se demostró que la selección del explante inicial es un factor determinante en la inducción de la embriogénesis somática a partir de flores masculinas inmaduras del cv. de plátano 'FHIA-21', ya que la mayor formación de callos con estructuras embriogénicas se logró (8,77%) cuando el brote masculino se ubicaba después de emitida la última flor femenina. Además, su clasificación posibilitó que con callos compuestos por masas de proembriones y embriones somáticos en etapas tempranas de desarrollo ontogénico se estableciera un 85,0% de suspensiones celulares embriogénicas.

3. Se corroboró la importancia de la densidad de inoculación sobre la formación y maduración de los embriones somáticos en medio de cultivo líquido, a través del estudio morfológico e histológico. Este factor influyó sobre el número de embriones somáticos, su morfología y sincronización del cultivo en estas fases. El mayor número de embriones con desarrollo homogéneo (etapa globular) se obtuvo con 1,5 gMF/30mL de densidad de inoculación.

3. En la fase de maduración, la densidad de inoculación de 0,6 gMF contribuyó a una mayor sincronización en el desarrollo de los embriones somáticos. Lo anterior favoreció el incremento del porcentaje de germinación y regeneración de plantas completas.

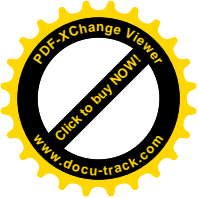


4. Se comprobó, en casa de cultivo, que las plantas regeneradas por embriogénesis somática mostraron alta supervivencia y bajos porcentajes de plantas con cambios fenotípicos. Lo anterior se confirmó en campo y además se evidenció una mejor respuesta morfológica y agronómica en plantas provenientes del cultivo *in vitro* con respecto a las plantas originadas de semilla asexual. Los marcadores moleculares AFLP no indicaron variaciones genéticas entre y dentro de las tres poblaciones de plantas del cv. de plátano 'FHIA-21' para las seis combinaciones de cebadores ensayadas.



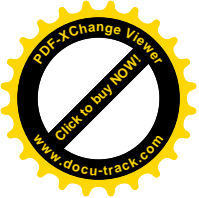
6. RECOMENDACIONES

1. Aplicar los resultados obtenidos durante la regeneración de plantas por embriogénesis somática del cv. de plátano 'FHIA-21' para la propagación *in vitro* de este cultivar.
2. Profundizar en el estudio de los nutrientes minerales durante la formación y maduración de los embriones somáticos, teniendo en cuenta los resultados de este trabajo.
3. Emplear la evaluación en campo de los caracteres morfológicos y agronómicos de interés comercial para determinar la factibilidad de la propagación *in vitro* de cultivares de *Musa* spp.
4. Evaluar mayor cantidad de combinaciones de cebadores con marcadores AFLP para detectar cambios a nivel molecular en plantas fuera de tipo o con cambios fenotípicos.

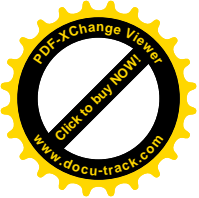


7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

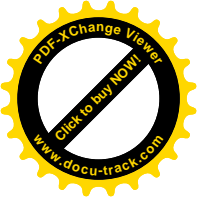
1. Adelberg J (2006) Agitated, thin-films of liquid media for efficient micropropagation. En: Dutta S. Gupta S. Ibaraki Y (eds) Engineering for plant tissue culture, frontiers of biotechnology. 6th ed. Springer-Verlag. Heidelberg. 101-117 pp.
2. Adelberg JW, Delgado MP, Tomkins JT (2010) Spent medium analysis for liquid culture micropropagation of *Hemerocallis* on Murashige and Skoog medium. *In Vitro Cell.Dev. Biol.-Plant.* 46: 95-107.
3. Agarwal M, Shrivastava N, Padh H (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports.* 27: 617-631.
4. Álvarez JM (1997) Introducción, evaluación, multiplicación y disseminación de los híbridos FHIA en Cuba. *InfoMusa.* 6:10-14.
5. Álvarez JM, Rosales FE (2008). Guía de campo para la identificación y caracterización de banano y plátano híbridos de la FHIA. (Ed Franklin E. Rosales). Bioersivity International. Montpellier, Francia. 12-15 pp.
6. Aly M, Rathinasabapathi B, Kellay K (2002) Somatic embryogenesis in perennial static *Limonium bellidifolium*, Plumbaginaceae. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 68:127-135.
7. Azofeifa-Delgado, A (2006) Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana.* 17: 221-242.
8. Barranco LA, Gómez-Kosky R, Reyes M, Posada L, Frerie M, Herrera I (2009) Efecto de la densidad de inóculo en la multiplicación y diferenciación de suspensiones celulares embriogénicas en el cultivar híbrido de banano FHIA-18 (*Musa* spp. AAAB). *Revista colombiana de Biotecnología* 2: 29-36.
9. Barbón-Rodríguez, Jiménez E, Capote A (2003) Influencia del genotipo y la densidad de inoculación sobre la diferenciación de embriones somáticos de *Coffea arabica* L. cv. Caturra rojo y *Coffea canephora* cv. Robusta. *Biotecnología Vegetal.* (3): 131-135.
10. Barry-Etienne D, Bertrand B, Schlo"nvoigt A, Etienne H (2002) The morphological variability within a population of coffee somatic embryos produced in a bioreactor affects them regeneration and the development of plants in the nursery. *Plant Cell Tiss Org Cult.* 68: 153-162.
11. Basail M, Kosky RG, Medero V, Otero E, Torres M, Cabrera M, López J, García M, Santos A, Rayas A, Ventura JC, Bauta M, Álvarez M, Paz E, Beovidez Y, Albert J, Ortega A, Espinosa A, García J (2007) Efecto de la densidad de explantes y el volumen de medio de cultivo en la propagación in vitro del cultivar híbrido 'FHIA-21' (AAAB) en Sistemas de Inmersión Temporal. *Biotecnología Vegetal.* 7 (1): 53-56.
12. Bermúdez-Carabaloso I, García L, Veitía N, Torres D, Padrón Y, Romero C, Orellana P (2010) Mutant plantains (*Musa* spp.) with height reduction obtained by in vitro mutagenesis. *Euphytica.* 176:105-112.



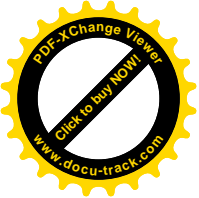
13. Berrie AM (1997) The Musaceae: the bananas. En: An introduction to the botany of the major crop plants. Heyden, Londres. 113-116 pp.
14. Belalcázar S (1991) El Cultivo del Plátano en el Trópico. Instituto Colombiano Agropecuario (Ed.) Fereira Cali, Colombia. 35-84 pp.
15. Bieberach C (1995) Embriogénesis somática y regeneración de plantas en cultivares de *Musa* spp. Tesis presentada en opción al grado científico de Magister Scientiae. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 86p.
16. Botti C, Vasil IK (1984). Ontogeny of somatic embryos of *Pennisetum americanum*. II. In cultured immature inflorescences. Can. J. Bot. 62:1629-1635.
17. Cabrera M, López J, Kosky RG, Montano N, Reyes M, Reinaldo D, Ventura JC, Medero V, Santos A, García M, Basail M, Espinosa E (2002) Multiplicación, histodiferenciación y regeneración de suspensiones celulares embriogénicas en plátanos vianda "Navolean" (AAB). Biotecnología vegetal. 2(2): 115-117.
18. Carreel F, Gonzalez de Leon D, Lagoda P, Lanaud C, Jenjy C, Horry JP, Tezanas du Montcel H (2002) Ascertaining maternal and paternal lineage with in *Musa* by chloroplast and mitochondrial DNA-RFLP analysis. Genome. 45: 679-692.
19. Carlier J, De-Waele D, Escalant JV (2002) Evaluación global de la resistencia de los bananos al marchitamiento por *Fusarium*, enfermedades de las manchas foliares causadas por *Mycosphaerella* y nematodos. Guías técnicas 6. INIBAP. Montpellier. 35-37 pp.
20. Castro D, Díaz J, N Montoya (2002) propagación clonal de bananos en biorreactores de inmersión temporal. Memorias XV Reunión Internacional ACORBAT. Primera edición, Medellín. Colombia. 45-48 pp.
21. Celestino C, Hernández I, Carneros E, López-Vela D, Toribio M (2005) La embriogénesis somática como elemento central de la biotecnología Forestal. Invest Agrar: Sist Recur For. 14(3): 345-357.
22. Côte FX, Sandoval JA, Marie P, Auboiron E (1993). Variations in micropropagated bananas and plantains. Literature survey. Fruits. 48:15-22.
23. Côte F, Domergue R, Monmarson S, Schwendiman J, Teisson C, Escalant JV (1996) Embryogenic cell suspensions from the male flower of *Musa* AAA cv. 'Grande Naine'. Physiologia Plantarum. 97: 285-290.
24. Côte F, Folliot M, Domergue R & Dubois C (2000) Field performance of embryogenic cell suspension-derived banana plants (*Musa* AAA, cv. 'Grande Naine'). Euphytica. 112: 245-251.
25. Chong B, Gómez R, Reyes M, Bermúdez I, Gallardo J, Freire M, Posada L, Herrera I, Swennen R (2005). New methodology for the establishment of cell suspensions of Grand Naine (AAA). InfoMusa, 14: 13-17.



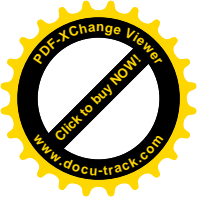
26. Chugh A, Khurana P (2002) Gene expression during somatic embryogenesis recent advances. *Current Science*. 83 (6): 715-739.
27. Cronauer SS, Krikorian AD (1983) Somatic embryos from cultured tissue of triploid plantains (*Musa ABB*). *Plant Cell Reports*. 2: 289-291.
28. Cronauer SS, Krikorian AD (1988) Plant regeneration via somatic embryogenesis in the seeded diploid banana *Musa ornata* Roxb. *Plant Cell Reports*. 7: 23-25.
29. Dai XM, Xiao W, Huang X, Zhao JT, Chen YF, Huang XL (2010) Plant regeneration from embryogenic cell suspensions and protoplasts of dessert banana cv. 'Da Jiao' (*Musa paradisiaca* ABB Linn.) via somatic embryogenesis. *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, Online First™, 5 October 2010.
30. Daniels D, Kosky R, Vega M (2002) Plant regeneration system via somatic embryogenesis in the híbrido cultivar FHIA 21 (*Musa* spp. AAAB). *In vitro Cell. Dev. Biol.* 38: 330-333.
31. De Feria M, Quiala E, Chávez M, Molejón L, Peralta E, Hernández M, Rodríguez A, Mirabal D, Sánchez Y (2005a) Efecto de la frecuencia de inmersión y la disponibilidad de medio de cultivo en la multiplicación del cv. híbrido FHIA-21 (*Musa* AAAB) en sistemas de inmersión temporal. *Bioteología Vegetal* 5(1): 9-15.
32. De Feria, Jiménez E, Barbón-Rodríguez R, Capote A, Chávez M, Quiala E (2005b) Diferenciación y germinación de embriones somáticos de *Coffea arabica* L. cv. Catimor 9722 obtenidos en agitador orbital. *Bioteología Vegetal*. 5 (2): 95-101.
33. De Feria M, Jiménez E, Barbón R, Capote A, Chávez M, Quiala E (2009c) Determinación del contenido de los principales componentes del medio de cultivo durante la fase de diferenciación de suspensiones celulares de *Coffea arabica* cv. Catimor 9722. *Bioteología Vegetal*. 9(3):131-139.
34. Desai NS, Joseph D, Suprasanna P, Bapat VA (2006) Study of elemental variations during somatic embryogenesis in sugarcane using photon induced X-ray probe. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. 252 (2): 299-302.
35. De Vries SC, Booij H, Meyerink P, Huisman G, Wilde Dh, Thomas TI, Van Kammen A (1988) Acquisition of embryogenic potential in carrot cell suspension culture. *Planta*. 176: 196-204.
36. Dhed'a D, Dumortier F, Panis B, Vuylsteke D, De Langhe E (1991) Plant regeneration in cell suspension cultures of the cooking banana cv. "Bluggoe" (*Musa* spp. ABB group). *Fruits* 46:125-135.
37. Ducos JP, Lambot C, Pétiard V (2007) Bioreactors for Coffee Mass Propagation by Somatic Embryogenesis. *International Journal of Plant Developmental Biology*. 1(1): 1-12.
38. Engelborghs IR, Swennen S, Van Campenhout (1998) The potential of AFLP to detect genetic differences and somaclonal variants in *Musa* sp. *InfoMusa*. 7(2): 3-6.



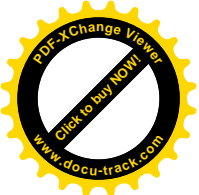
39. Escalant JV, Teisson C (1989) Somatic embryogenesis and plants from immature zygotic embryos of the species *Musa acuminata* and *Musa balbisiana*. *Plant Cell Reports* 7: 665-668.
40. Escalant JV, Teisson C, Cote F (1994) Amplified somatic embryogenesis from male flowers of triploid banana and plantain cultivars (*Musa* spp.). *In vitro Cell Dev. Biol* 30: 181-186.
41. Escalant JV, Teisson C, Côte F (1998) Establishment of embryogenic callus and initiation and regeneration of embryogenic cell suspensions from female and male immature flowers of *Musa*. *InfoMusa*. 7(1):13-15.
42. Escalona M, Lorenzo JC, González B, Daquinta M, González JL, Desjardins Y, Borroto CG (1999) Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Report*. 18: 743-748.
43. Escalona M, Cejas I, González J, Capote I, Roels S, Cañal MJ, Rodríguez R, Sandoval J, Debergh P (2003) The effect of meta-topolin on plantain propagation using a temporary immersion bioreactor. *InfoMusa* (12) 2: 28-30.
44. Etienne E, Berthouly M (2002) Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 69: 215-231.
45. Echavarrí B, Soriano M, Cistué L, Valdés P, Castillo AM (2008) Zinc sulphate improved microspore embryogenesis in barley. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 93: 295-301.
46. Espinal C, Martínez H, Peña Y (2006) La cadena de plátano en Colombia. Una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Documento de trabajo No. 102. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Observatorio Agrocadenas. Bogotá, Colombia. 44 pp.
47. Evans DE, Coleman J OD, Kearns A (2003) *Plant Cell Culture*. USA. BIOS. p 153-155.
48. FAOSTAT (2011) Food and agriculture organization of the United Nations FAO. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID>. Consulta 3 de mayo de 2011.
49. Fisher DB (1968) Protein staining of ribboned Epon sections for light microscopy. *Histochemie* 16: 92-96.
50. Filonova L, Bozhkov P, von Arnold S (2000) Developmental pathway of somatic embryogenesis in *Picea abies* as revealed by time-lapse tracking. *J. Exp. Bot.* 51: 249-264.
51. Feder N, O'Brien TP (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. *Am. J. Bot.* 55:123-147.
52. Fehér A, Pasternak T, Dudits D (2003) Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 74:201-228.
53. Fehér A (2005) Why somatic plant cells start to form embryos? In: Mujid, Abdul and Samaj, Josef. eds. *Somatic Embryogenesis*. *Plant Cell Monographs*, Springer; Berlin/Heidelberg. 2: 85-101.



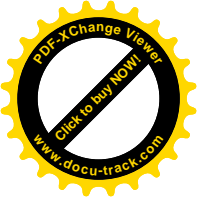
54. Fehér A (2008) The initiation phase of somatic embryogenesis: what we know and what we don't. *Acta Biologica Szegediensis*. 52(1): 53-56.
55. Fereol L, Chovelon V, Causse S, Triaire D, Arnault I, Auger J, Kahane R (2005) Establishment of embryogenic cell suspension cultures of garlic (*Allium sativum* L.), plant regeneration and biochemical analyses. *Plant Cell Rep*. 24: 319-325.
56. FHIA (2002) En línea: <http://www.fao.org>. Consulta 3 de mayo de 2007.
57. FHIA (2007) Bananos y plátanos de la FHIA para la seguridad alimentaria. En: FHIA INFORMA. Año 16. No. 1. FHIA. 6-8 pp.
58. Gahan PB, George EF (2008) Adventitious Regeneration. En: *Plant Propagation by Tissue Culture* (eds.) George EF, Hall MA y De Klerk GJ, 3rd Edition, Volume 1. The Netherlands. 355-401 pp.
59. Gamborg OL, Shyluk JP (1970) The culture of plant cells with ammonium salts as a sole nitrogen source. *Plant Physiol*. 45: 598-600.
60. Gaj MD (2004) Factors influencing somatic embryogenesis induction and plant regeneration with particular reference to *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Growth Regulation* 43: 27-47.
61. García-Águila L, Kosky R, Chong B, Reyes M, Freire-Seijo M, Alvarado-Capó Y (2006) Obtención de plantas del cultivar híbrido de plátano 'FHIA-21' (*Musa AAAB*) a partir de líneas celulares embriogénicas. *Biotecnología Vegetal*. 6: 2: 79-82.
62. Ge XJ, Liu MH, Wang WK, Schaal BA, Chiang TY (2005) Contrasting population structuring of wild banana, *Musa balbisiana*, in China based on evidence between microsatellite fingerprinting and cpDNA PCR-RFLP. *Mol. Ecol*. 14: 933-944.
63. Georget F, Côte FX, Domergue R, Ferrière N (2000) Morphohistological study of the different constituents of a banana (*Musa* AAA, cv 'Grande Naine') embryogenic cell suspension. *Plant Cell Reports*. 19: 748-754.
64. George EF, de Klerk GJ (2008) The components of plant tissue culture media I: Macro and Micro nutrients. En: *Plant Propagation by Tissue Culture* (eds.) George EF, Hall MA y De Klerk GJ, 3rd Edition, Volume 1. The Netherlands. 65-113 pp.
65. Gupta PK, Timmis R (2005) Mass propagation of conifer trees in liquid cultures progress towards commercialization. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 81:339-346.
66. Grapin A, Schwendiman J, Teisson C (1996). Somatic embryogenesis in plantain banana. *In vitro Plant Cell. and Dev. Biol*. 32: 66-71.
67. Grapin A, Ortiz JL, Domergue R, Babeau J, Monmarson S, Escalant JV, Teisson C, Côte F (1998) Establishment of embryogenic callus and initiation and regeneration of embryogenic cell suspensions from female and male immature flower of *Musa* spp. *InfoMusa* 7(1):13-15.



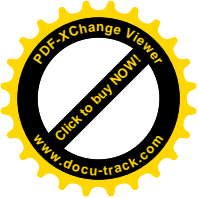
68. Grapin A, Ortíz JL, Lescot T, Ferrière N, Côte FX (2000) Recovery and regeneration of embryogenic cultures from female flowers of False Horn Plantain. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 61: 237-244.
69. Ghasemi Y, Mashayekhi K, Ghasemnezhad A, Movahhedi SA (2009) The effects of calcium and magnesium on carrot (*Dacus carota* L. cv. Nants) petiole somatic embryogenesis. *International Journal of Plant Production*. 3(4): 1735-6814.
70. Halperin W (1995) Current plant science and biotechnology in agriculture. In vitro embriogénesis. Thorpe TA. Kluwer Academic, Dordrecht Vol 1. Netherlands. Extraído el 6 de enero, 2009. <http://www.springer.com/series/6444>
71. Harirah AA, Khalid N (2006) Direct Regeneration and RAPD Assessment of male inflorescence derived plants of *Musa acuminata* cv. 'Berangan'. *Asia Pac J Mol Biol Biotechnol*. 14: 11-17.
72. Heller R (1953) Researches on the mineral nutrition of plant tissues. *Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Vg.* 11th Ser. 14: 1-223.
73. Hernández A, Ascanio MO, Morales M, Cabrera A (2005) Correlación de la nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba con las clasificaciones internacionales y nacionales: una herramienta útil para la investigación, docencia y producción agropecuaria. Instituto Nacional De Ciencias Agrícolas (INCA). Habana, Cuba: 18-59 pp.
74. Hernández R, Rodríguez R, Ramírez T, Cañal MJ, Guilén D, Noceda C, Escalona M, Corujo M, Ventura J (2007) Genetic and morphoagronomic characterization of plantain variants of *Musa* AAB clone CEMSA ¾. *J. Food, Agriculture and Enviroment* 5(1): 220-223.
75. Hossain B, Hirata N, Nagatomo Y, Akashi R. Takaki H (1997) Internal zinc accumulation is correlated with increased growth in rice suspension culture. *J. Plant Growth Regul.* 16: 239-243.
76. Högberg KA, Bozhkov PV, Grönroos R, von Arnold S (2001) Critical factors affecting ex vitro performance of somatic embryo plants of *Picea abies*. *Scand. J. For. Res.* 16: 295-304.
77. Huang X, Yan-Lu,X, Jie-Tang Z, Jie-Kai C, Xue-Mei D (2010) MaSERK1 gene expression associated with somatic embryogenesis competence and disease resistance response in banana (*Musa* spp.). *Plant Mol Biol Rep.* 28: 309-316.
78. Ibaraki Y, Kurata K (2001) Automation of somatic embryo production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 65: 179-199.
79. IBP (2005) Protocolos para la micropropagación cultivares de plátanos y bananos mediante organogénesis. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.
80. Imin N, De Jong F, Mathesius U, van Noorden G, Saeed NA, Wang XD, Rose RJ, Rolfe BG (2004) Proteome reference maps of *Medicago truncatula* embryogenic cell cultures generated from single protoplasts. *Proteomics* 4:1883-1896



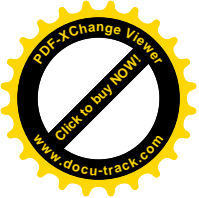
81. INIVIT (2007) Instructivo técnico del cultivo del plátano. Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales. Biblioteca ACTAF, primera edición. 21 p.
82. IPGRI-INIBAP/CIRAD (1996) Descriptores para el banano (*Musa* spp.). Instituto internacional de recursos filogenéticos, Roma Italia; Red Internacional para el mejoramiento del banano y el plátano. Montpellier, Francia; y Center de Coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, Montpellier, Francia. 23 p.
83. Israeli Y, Reuveni O, Lahav E (1991) Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by in vitro techniques. *Sci Hortic.* 48: 71-88.
84. Jain SM (2001) Tissue culture derived variation in crop improvement. *Euphytica.* 118: 153-166.
85. Jalil M, Khalid N, Othman RY (2003) Plant regeneration from embryogenic suspension cultures of *Musa acuminata* cv. Mas (AA). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 75: 209-214.
86. Jalil M, Chee WW, Othman RY, Khalid N (2008) Morphohistological examination on somatic embryogenesis of *Musa acuminata* cv. Mas (AA). *Scientia Horticulturae.* 117: 335-340.
87. Jensen WA (1962) *Botanical Histochemistry. Principles and practice.* University of California, Berkeley. WH Freeman and Company. San Francisco. 23-56 pp.
88. Jiménez-Terry F, Ramírez D y Agramonte D (2002) Empleo del BIOBRAS-6 en la micropropagación del cultivar de plátano FHIA 21 (*Musa* AAAB). *Biotechnología Vegetal* 2(3): 131-136
89. Jiménez VM (2001) Regulation of in vitro somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.* 13 (2):196-223.
90. Jiménez VM (2005) Involvement of plant hormones and plant growth regulators on in vitro somatic embriogenesis. *Plant Growth Regulation.* 47:91-110.
91. Jiménez V, Thoma C (2006) Participation of plant hormones in determination and progression of somatic embryogenesis. En: Mujid A, Samaj J, (eds). *Somatic embryogenesis. Plant Cell Monographs, vol 2, Robin-son DG series ed., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.* 103-118 pp.
92. Kaeppler SM, Kaeppler HF, Rhee Y (2000). Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. *Plant Mol. Biol.* 43: 179-188.
93. Karami O, Abbas S (2010) The molecular basis for stress-induced acquisition of somatic embryogenesis. *Mol Biol Rep.* 37: 2493-2507.



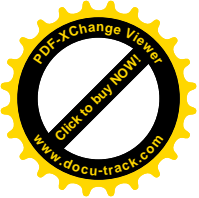
94. Khalil SM, Cheah KT, Pérez EA, Gaskill DA, Hu JS (2002) Regeneration of banana (*Musa* spp. AAB cv. Dwarf Brazilian) via secondary somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep.* 20: 1128-1134.
95. Khalil SM, Elbanna AAM (2004) Highly efficient somatic embryogenesis and plant regeneration via suspension cultures of banana (*Musa* spp.) *Arab J. Biotech.* 7(1): 99-110.
96. Kintzios S, Stavropoulou ER, Skamneli S (2004) Accumulation of selected macronutrients and carbohydrates in melon tissue cultures: association with pathways of *in vitro* dedifferentiation and differentiation (organogenesis, somatic embryogenesis). *Plant Sci.* 167: 655-664.
97. Kobayashi T, Higashi K, Sasaki K, Asami T, Yoshida S, Kamada H (2000) Purification from conditioned medium and chemical identification of a factor that inhibits somatic embryogenesis in carrot. *Plant Cell Physiol* 41: 268-273.
98. Kobayashi T, Higashi K, Kamada H (2001) Stimulatory and Inhibitory Conditioning Factors that Regulate Proliferation and Morphogenesis in Plant Cell Cultures *Cell. Plant Biotechnology.* 18 (2): 93- 99.
99. Kosky R (1998) Cultivo de Células y Tejidos. En: Pérez JN (ed). *Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología.* IBP, Santa Clara. 25-44 pp.
100. Kosky GR, Gilliard T, Barranco LA, Reyes M (2000) Embriogénesis somática en medios líquidos. Maduración y aumento de la germinación en el cultivar híbrido 'FHIA-18' (AAAB). *InfoMusa.* 9 (1):12-16.
101. Kosky GR, De Feria M, Posada LP, Gilliard T, Bernal FM, Reyes MV, Chávez MM, Quiala EM (2002) Somatic embryogenesis of the banana hybrid cultivar 'FHIA-18' (AAAB) in liquid medium and scale-up in a bioreactor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 68: 21-26.
102. Kosky GR, Barranco LA, Chong B, Daniels D, Reyes M, De Feria M (2006) Trueness-to-type and yield components of banana hybrid cultivar 'FHIA-18' plants regeneration via embryogenesis in a bioreactor. *Euphytica.* 150: 63-68.
103. Kothari-Chajer A, Sharma M, Kachhwaha S, Kothari SL (2008) Micronutrient optimization results into highly improved *in vitro* plant regeneration in kodo (*Paspalum scrobiculatum* L.) and finger (*Eleusine coracana* L.) Gaertn.) millets. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 94: 105-112.
104. Kutschera U (1994) The current status of the acid-growth hypothesis. *New Phytol.* 126: 549-569.
105. Kraus JE, Arduin M (1997) *Manual Básico de Métodos em Morfologia vegetal.* Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. 25p.
106. Lanquar V, Lelièvre F, Bolte S, Hamès C, Alcon C, Neumann D, Vansuyt G, Curie C, Schröder A, Krämer U, Barbier-Brygoo H, Thomine S (2005) Mobilization of vacuolar iron by AtNRAMP3 and AtNRAMP4 is essential for seed germination on low iron. *The EMBO Journal.* 24: 4041-4051.



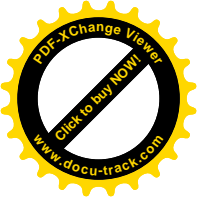
107. Leifert C, Murphy KP, Lumsden PJ (1995) Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue cultures. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 14: 83-109.
108. Litz RE, Jarret RL (1991) Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos. Embriogénesis somática y organogénesis. En: Roca, WM y Mroginski LA (eds). *Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones.* CIAT, Cali. 143-172 pp.
109. López ZM (1989) *El plátano.* Editorial Pueblo y Educación. La Habana. Cuba. 18-23 pp.
110. López J, Kosky R, Toledo H, Montano N, Rayas A, Reinaldo D, Chong B, Cabrera M, Santos A, Ventura J, Medero V (2005) Evaluación en campo de plantas regeneradas por embriogénesis somática a partir de brotes de yemas axilares en cv. 'Navolean' (*Musa spp.*, AAB) (2005) *Biotecnología Vegetal* 5: (2). 115-120.
111. López J (2006) Metodología para el desarrollo de la embriogénesis somática en el cultivar de plátano vianda "Navolean" (*Musa spp.* Grupo AAB). Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas. Santa Clara, Cuba.
112. Ma SS (1991) Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension culture of banana. *Proceedings of symposium on tissue culture of horticultural crops.* Department of Horticulture, National Taiwan University. 181-188 pp.
113. Mahalakshmi A, Bhumica S, Jitendra PK, Paramjit K (2007) Role of calcium-calmodulin in auxin-induced somatic embryogenesis in leaf base cultures of wheat (*Triticum aestivum* var. HD 2329). *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 88:167-174.
114. Mashayekhi K (2007) *Plant somatic embryogenesis.* Makhtomgholi (sarli) press. 488p.
115. Martínez GA (1984) Determinación del área mínima foliar en plátano en el trópico húmedo. *Revista ICA.* 19: 183-187.
116. Martínez G, Tremont O, Hernández J (2004) Manual técnico para la propagación de musáceas. *Revista Digital CENIAP HOY.* Maracay, Aragua, Venezuela. URL:www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n4/texto/gmartinez.htm visitado en fecha: 7 de marzo del 2011.
117. Marroquin CG, Paduscheck C, Escalant JV, Teisson C (1993) Somatic embryogenesis and plant regeneration through cell suspensions in *Musa acuminata* *In vitro Cell. Dev. Biol.* 29: 43-46.
118. Mondal TK, Bhattacharya A, Ahuja PS (2001) Induction of synchronous secondary somatic embryogenesis in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. *J. Plan Physiol* 158: 945-951.
119. McManus, JFA (1946) Histological demonstration of mucin after Periodic Acid Schiff treatment. *Nature.* 158: 202-205.
120. Merkle S, Parrott W, Flinn B (1995) Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. En: Thorpe TA (Ed) *In vitro Embryogenesis in plants.* Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands. 155-203 pp.



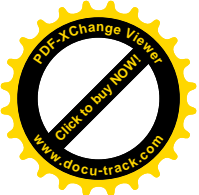
121. Minyaka E, Niemenak N, Abdourahamane FS, Ndoumou D (2008) Effect of MgSO₄ and K₂SO₄ on somatic embryo differentiation in *Theobroma cacao* L. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 94:149-160.
122. Montoro P, Etienne H, Carron MP (1995) Effect of calcium on callus friability and aromatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* Mull. Arg.: relations with callus mineral nutrition, nitrogen metabolism and water parameters, *J. Exp. Bot.* 46: 255-261.
123. Murashige T y Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15: 473-497.
124. MUSADOC (2000) International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP). Parc Scientifique Agropolis. Montpellier, Francia. Disco compacto. ISBN: 2-910810-39-9.
125. Nalina L, Kumar N, Soorianathasundaram K, Kennedy JS, Krishnamoorthu V, Ganga M (2006) Iniciación y diferenciación del brote en las plantas de Robusta (AAA) derivado de los retoños y de las plántulas cultivadas a partir de tejidos. *InfoMusa.* 15(1-2):23-25.
126. Neumann KH, Kumar A, Imani J (2009). *Plant cell and tissue culture- A tool in Biotechnology: Basics and Application.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
127. Nolan KE, Saeed NA, Rose RJ (2006) The stress kinase gene MtSK1 in *Medicago truncatula* with particular reference to somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep* 25:711-722.
128. Nomura K, Komamine A (1985) Identification and isolation of single cells that produce somatic embryos at a high frequency in a carrot suspension culture. *Plant Physiol.* 79: 988-991.
129. Navarro C, Escobedo RM, Mayo A (1997) *In vitro* plant regeneration from embryogenic cultures of a diploid and a triploid, Cavendish banana. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 51: 17-25.
130. Novak FJ, Afza R, Duren M, Perea DM, Conger BV, Tang X (1989) Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspension cultures of dessert (AA and AAA) and cooking (ABB) bananas (*Musa* spp.). *Bio/ Technology* 7: 154-159.
131. Orellana P, Alvarado P, Guijarro JM, Pérez J, Pérez L, Rowe P, Moreno E, Clavero J, Romero C, y Hernández A (1999) Introducción y validación de híbridos tetraploides de *Musa* en Cuba. *Corbana.* 24 (51):79-84.
132. Orellana P, Bermúdez I, García L, Veitía N (2002) Evaluation of the agronomic characteristics of plantain hybrids (*Musa* spp.). *InfoMusa* 11(1): 34-35.
133. Osuga, K, Kamada H y Komamine A (1993) Cell density is an important factor for synchronization of the late stage of somatic embryogenesis at high frequency. *Plant Tissue Culture Letters* 10 (2): 180-182.



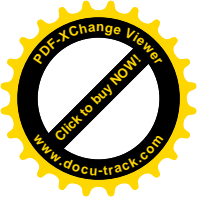
134. Osuga K, Komamine A (1994) Synchronization of somatic embryogenesis from carrot cells at high frequency as a basis for the mass production of embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 39: 125-135.
135. Palombi MA, Damiano C (2002) Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev). *Plant Cell Reports*. 20: 1061-1066.
136. Parrot W, Dryden G, Vogt S, Hildebrand D, Collins G, Williams E (1988) Optimization of somatic embryogenesis and embryo germination in soybean. *In vitro Cell. Dev. Biol.* 24: 817-820.
137. Parrot W (1993). Cell-Culture techniques. In: International network for the improvement of banana and plantain (Ed). Proceedings of the workshop on Biotechnology applications for banana and plantain improvement. San José, Costa Rica. INIBAP. 183-191 pp.
138. Pérez JN y Orellana P (1994) *Musa* Improvement in Cuba. En: Jones DR (Ed) The Improvement and testing of *Musa*: A Global Partnership. Honduras. 203-206 pp.
139. Peralta EL, Villoch A (1999) Metodología para la validación de ensayos inmunoquímicos y moleculares utilizados en el diagnóstico de fitopatógenos En: Libro de resúmenes del X Congreso Latinoamericano de Fitopatógenos. Guadalajara, México.
140. Picca A, Helguera M, Salomón N, Carrera A (2004) Marcadores moleculares. In Echenique V, Rubinstein C, Mroginski L, eds. *Biología y mejoramiento vegetal*. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biología. Ediciones INTA. Argentina. 61-68 p.
141. Pillay N, Nwakanma DC, Tenkouano A (2000) Identification of RAPD markers to A and B genome sequences in *Musa* L. *Genome*. 43:763-767.
142. Poddar K, Vishnoi RK, Kothari S (1997) Plant regeneration from embryogenic callus of finger millet *Eleusine coracana* (L.) Gaertn on higher concentrations of NH_4NO_3 as a replacement of NAA in the medium. *Plant Sci* 129: 101-106.
143. Preece JE (1995) Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulators. *Plant Tissue Cult Biotechnol* 1:26-37.
144. Pullman GS, Montello P, Cairney J, Xu N, Feng X (2003) Loblolly pine (*Pinus taeda* L.) somatic embryogenesis: maturation improvements by metal analyses of zygotic and somatic embryos. *Plant Science*. 164: 955-969.
145. Quiroz-Figueroa FR, Rojas-Herrera R, Galaz-Avalos RM, Loyola-Vargas VM (2006) Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 86:285-301.
146. Raboin LM, Carreel F, Noyer JL, Baurens FC, Horry JP, Bakry F, Tezenas Du Montcel H, Ganry J, Lanaud C, Lagoda JL (2005) Diploid ancestors of triploid export banana cultivars: molecular identification of 2n restitution gamete donors and gamete donors. *Mol. Breed*. 16: 333-341.



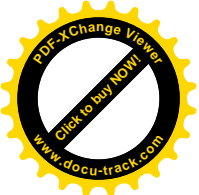
147. Ramage CM, Williams R (2002) Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 38:116-24.
148. Ramírez M, García E, Finol H (2006) Ultrastructural studies on embryogenic and non embryogenic calluses from Williams' banana (*Musa* spp.). *Agronomía Trop.* 56(4):615-620.
149. Raghavan Ch, Ong EK, Dalling MJ, Stevenson YW (2006) Regulation of genes associated with auxin, ethylene and ABA pathways by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in arabidopsis. *Functional and Integrative Genomics.* 6(1): 60-70.
150. Reinert J (1958) Über die konhülle der morphogeneses und die induktion von adventivembryomen und gewebeulturen aus kastofel. *Planta.* 58: 318-33.
151. Roberts D, Flinn B, Webb D, Webster F, Sutton B (1990) Abscise acid and indole-3-butyric acid regulation of maturation and accumulation of storage proteins in somatic embryos of interior spruce. *Physiol. Plant.* 78: 355-359.
152. Rose RJ (2004) Somatic embryogenesis in plants. In: Goodman RM (ed) *Encyclopedia of plant and crop science.* Marcel Dekker Inc., New York. 1165-1168 pp.
153. Saha P, Sarmistha SR, Mathummal S, Chakraborty A (2010) Analysis of Trace Elements During Different Developmental Stages of Somatic Embryogenesis in *Plantago ovata* Forssk Using Energy Dispersive X-ray Fluorescence. *Plant Cell, Tissue Organ Cult* 67:55-62.
154. Sahijram L, Soneji RJ, Bollamma KT (2003) Analyzing somaclonal variation in micropropagated bananas (*Musa* spp.). *In Vitro Cell Dev Biol Plant.* 39 : 551-556.
155. Sadik K, Rubaihayo PR, Magambo MJS, Pillay M (2007) Generation of cell suspensions of East African highland bananas through scalps. *African Journal of Biotechnology.* 6(11): 1352-1357.
156. Sandoval J, Brenes G, Pérez L (1991) Micropropagación de plátano y banano en el CATIE. Serie Técnica. Informe técnico 22. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 186 p.
157. Sandoval JF y Escoute J (1996) Aspectos citológicos y descripción de una metodología para el conteo de los cromosomas en el género *Musa*. *Corbana* 21(45):51-56.
158. Sandoval JA, Pérez L, Côte F (1997) Estudio morfológico y de la estabilidad genética de plantas variantes de banano (*Musa* AAA cv. Gran Enano). *Corbana.* 22(48):41-60.
159. Sambrook J, Russell WR (2001) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbour, New York, USA.
160. Senaratna T, Mekersie B, Bowlery S (1990) Artificial seeds of alfalfa *Medicago sativa* L. induction of desiccation tolerance in somatic embryos. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 3: 16-85.
161. Shigeta J, Sato K, Mi M (1996) Effects of initial cell density, pH and dissolved oxygen on bioreactor production of carrot somatic embryos. *Plant Science.* 115: 109-114.



162. Sheng ZW, Ma WH, Jin ZQ, Bi Y, Sun ZG, Dou HT, Gao JH, Li JY, Han LN (2010) Investigation of dietary fiber, protein, vitamin E and other nutritional compounds of banana flower of two cultivars grown in China. *African Journal of Biotechnology*. 9(25): 3888-3895.
163. SIGMA (1991) Catalogue Sigma Chemical Company. USA. 5 p.
164. Suprasanna P, Sági L, Swennen R (2002) Positive selectable marker genes for routine plant transformations. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant*. 38: 125-128.
165. Soto RH (1985) Bananas. Cultivos y comercialización. San José: Litografía e imprenta S.A. 648 p.
166. Söndahl MR, Nakamura T, Sharp WR (1991) Propagación in vitro del café. En: Cultivo de tejidos en la Agricultura. Roca WM y Mroginski (eds). 27: 621-642.
167. Schenk RU, Hildebrandt AC (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell culture. *Canadian Journal of Botany*. 50: 199-204.
168. Schoofs H (1997) The origin of embryogenic cells in *Musa*. Ph.D. Thesis, K.U. Leuven, Belgium. 257p.
169. Schoofs H, Panis B, Strosse H, Mayo A, López J, Roux N, Dolezel J, Swennen R (1999) Cuellos de botella en la generación y mantenimiento de las suspensiones celulares morfogénicas de banano y la regeneración de las plantas vía embriogénesis somática a partir de ellas. *InfoMusa*. 8(2): 3-7.
170. Smith DL, Scherk WG (1972) *ASS of analytical chemist*. 55-669 pp.
171. Steward FC, Mapes MO, Smith J (1958) Growth and organized development of cultured cells. *American Journal of Botany*. 45: 693-704.
172. Stuart DA, Strickland SG (1984) Embryogenesis from cell cultures of *Medicago sativa*. The role of amino acid additions to the regeneration medium. *Plant Science Lett*. 34: 74-81.
173. Strosse H, Domergue R, Panis B, Escalant J, Côte F (2003) Suspensiones de células embriogénicas de banano y plátano. Guía técnica INIBAP 8. Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano, Montpellier, Francia. 6-15 pp.
174. Strosse H, Van den Hauwe I, Panis B (2004) Banana cell and tissue culture - review. In: Jain S. M. y Swennen R. (eds). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology and Induced Mutations*. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA. 1-12 pp.
175. Strosse H, Schoofs H, Panis B, Andre E, Reyniers K, Swennen R (2006) Development of embryogenic cell suspensions from shoot meristematic tissue in bananas and plantains (*Musa* spp.). *Plant Sci*. 170:104-112.
176. Takeda T, Inose H, Matsuoka H (2003) Stimulation of somatic embryogenesis in carrot cell by the addition of calcium. *Biochemical engineering journal*. 14: 143-148.

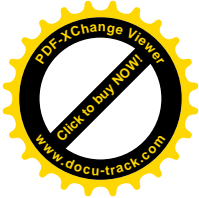
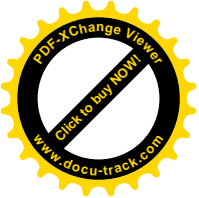


177. Thomas C, Bronner R, Molinier J, Prinsen E, van Onckelen H, Hahne G (2002) Immuno-cytochemical localization of indole-3-acetic acid during induction of somatic embryogenesis in cultured sunflowers embryos. *Planta* 215: 577-583.
178. Tonon G, Berardi G, Rossi C, Bagnaresi U (2001) Synchronized somatic embryo development in embryogenic suspensions of *fraxinus angustifolia*. *In Vitro Cell Dev Biol.* 37: 462-465.
179. Tugume AK, Lubega GW, Rubaihayo PR (2002) Diversidad genética de los bananos de altiplanos de África Oriental utilizando AFLP. *InfoMusa* 11(2): 28-32.
180. Uma S, Siva SA, Saraswathi MS, Manickavasagam M, Durai P, Selvarajan R, Sathiamoorthy S (2006) Variation and intraspecific relationships in India wild *Musa balbisiana* (BB) population as evidenced by Random Amplified Polymorphic DNA. *Gen. Resour. Crop Evol.* 53: 349-355.
181. Vasil IK (1988) Progress in the regeneration and genetic manipulation of cereal crops. *Biotechnology.* 6: 397-402.
182. Venkatachalam L, Sreedhar RV, Neelwarne B (2007) Genetic analyses of micropropagated and regenerated plantlets of banana as assessed by RAPD and ISSR markers. *In vitro Cell Dev Biol Plant.* 43: 267-274.
183. Villegas F, Giménez C, Vilchez J, Moreno M, Sandoval L, Colmenares M (2008) Oxidación en la inducción de la embriogénesis somática a partir de flores masculinas inmaduras de Gran Enano (*Musa AAA*). *Rev. Fac. Agron.* 25(3): 21-28.
184. von Arnold S, Sabala I, Bozhkov P, Dyachok J, Filonova L (2002) Developmental pathways of somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 69: 233-249.
185. von Arnold S (2008) Somatic embryogenesis. En: *Plant Propagation by Tissue Culture* (eds.) George EF, Hall MA y De Klerkl GJ, 3rd Edition, Volume 1. The Netherlands. 335-354 pp.
186. Wang LX, Chiang YT, Roux N, Hao G, Ge JX (2007) Genetic diversity of wild banana (*Musa balbisiana* Colla) in China as revealed by AFLP markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 54: 1125-1132.
187. Widholm J (1972) The use of fluorescein diacetate and phenosafranine for determining viability of culture plant cells. *Stain Technology.* 47: 189-194.
188. Wong C, Kiew R, Loh JP, Gan HL, Set O, Lee SK, Lum S, Gan YY (2001) Genetic diversity of the wild banana *Musa acuminata* Colla in Malaysia as evidenced by AFLP. *Ann. Bot.* 88: 1017-1025.
189. Yeung EC (1995) Structural and developmental patterns in somatic embryogenesis. En: Thorpe TA (Ed). *In vitro* embryogenesis in plants. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands. 247-253 pp.
190. Youssef M, James A, Mayo-Mosqueda A, Ku-Cauich JR, Grijalva-Arango R, Escobedo-GM RM (2010) Influence of genotype and age of explants source on the capacity for



Referencias Bibliográficas

- somatic embryogenesis of two Cavendish banana cultivars (*Musa acuminata* Colla, AAA). *African Journal of Biotechnology*. 9(15): 2216-2223.
191. Zeng F, Zhang X, Cheng L, Hu L, Zhu L, Cao J, Guo X (2007) A Draft Gene Regulatory Network For Cellular Totipotency reprogramming during plant somatic embryogenesis. *Genomics*. 90 (5): 620-628.
192. Zavattieri MA, Frederico AM, Lima M, Sabino R, Arnholdt-Schmitt B (2010) Induction of somatic embryogenesis as an example of stress-related plant reactions. *Electronic Journal of Biotechnology*. <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol13/issue1/full/4/>



Anexo 1. Caracterización del cultivar híbrido de plátano 'FHIA-21' (*Musa* AAAB) según la FHIA (2002).

- Origen: FHIA, Honduras, Centro América
- Nombre del mejorador: Phillip Rowe
- Tipo: plátano tipo Francés
- Año de generación: 1987
- Nombre código: FHIA SH-3460
- Linaje: AVP-67 (AAB) X SH-3142 (AA)
- Genoma/Ploidía: AAAB
- Uso: consumo procesado (hervido o frito, verde o maduro)

Características de la planta:

Morfológicas:

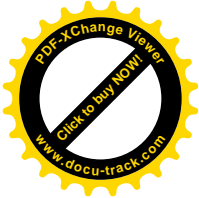
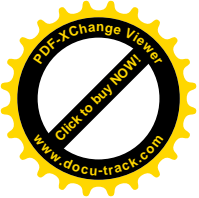
- Hábito foliar: decumbente
- Apariencia del seudotallo: brillante (no ceroso)
- Altura: 3,5 – 4,0m
- Tipo de bellota: normal (presente permanentemente)
- Forma de racimo: asimétrico
- Posición del racimo: ligeramente inclinado
- Color del fruto: verde claro
- Forma del fruto: recto en la parte distal
- Forma del ápice del fruto: ligeramente puntiagudo

Fenológicas:

- Duración primer ciclo vegetativo (siembra a floración): 240 - 280 días
- Duración primer ciclo productivo (parición a cosecha): 85 - 100 días
- Días transcurridos de siembra a segunda floración: 540 - 570 días

Producción:

- Peso neto del racimo (sin raquis): 22 - 27kg



- Número de dedos por racimo (sin desmane): 120 -150 dedos
- Número de dedos/racimo (con desmane a 5 manos): 70 - 80 dedos
- Peso dedos individuales (con desmane a 5 manos): 250 - 350g

Respuesta a enfermedades:

- Sigatoka negra: resistente
- Mal de Panamá: resistente
- Nemátodos: susceptible a *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffea*
- Pudrición de corona: desconocida
- Virus: susceptible al virus estriado del banano (BSV, del inglés: *Banana Streak Virus*)

Descripción del sitio de evaluación:

- Localización: latitud N 15° 2131 Longitud O 87° 5635
- Precipitación pluvial anual: 1000 a 1200mm³
- Temperatura promedio anual: 26°C
- Altura promedio: 25msnm (metros sobre el nivel del mar)