

## CONSIDERACIONES BIOTECNOLOGICAS PARA EL MEJORAMIENTO EN MUSACEAS.

**MARGARITA PEREA DALLOS**, Profesora Emérita,  
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias - Universidad Nacional de Colombia.  
Apartado Aéreo 14490 - Santafé de Bogotá. D. C.

### INTRODUCCION

Los bananos y plátanos constituyen una excelente fuente de alimentación de cuatrocientos millones de personas. La FAO reporta que la producción mundial se acerca a los ochenta millones de toneladas por año (1.995).

Sin embargo mantener la producción es bastante difícil debido a la alta incidencia de hongos especialmente *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* agentes causales de la Sigatoka Negra y el mal de Panamá respectivamente. Las pérdidas de producción pueden llegar al 50%, por lo cual se hace necesario una intensiva fumigación para la Sigatoka negra con el propósito de proteger los cultivos de banano. Hoy en día estas prácticas son muy criticadas debido a los efectos causados en el medio ambiente y el suelo, además de los altos costos los cuales son incansables para el pequeño agricultor.

Las estrategias orientadas al mejoramiento de bananos y plátanos ubican a los productores, investigadores y exportadores en una posición privilegiada en la cual convergen:

- a) Eficiencia en la producción utilizando plantas libres de patógenos .
- b) Aplicaciones biotecnológicas empleando la propagación clonal de clones mejorados.
- c) Cambios favorables en el contexto económico y político.

De manera pues, que al iniciar el nuevo milenio, asistimos a un momento histórico excepcional no solo por los radicales cambios en la geopolítica mundial sino por lo que significa el cambio en el desarrollo de nuestros cultivos en donde la agricultura moderna deberá tener un impacto considerable especialmente en Musaceas.

### MEJORAMIENTO

Los bananos y plátanos comercialmente son considerados como el resultado de hibridaciones naturales entre especies diploides silvestres de *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana* (genoma B) (Simmonds y Shepherd 1.955).

El objetivo de la hibridación o cruce genético es la de obtener la variación genética para que el fitomejorador pueda seleccionar de la progenie la más deseable combinación de genes ( Perea y Constabel, 1.996).

El mejoramiento genético de los bananos y plátanos es muy difícil debido a la característica de triploidía, es decir que presentan tres juegos de once cromosomas dando como resultado la esterilidad de la fruta, debido a la partenocarpia existente en bananos y plátanos; se produce entonces la fruta con semillas estériles.

El método más utilizado por los fitomejoradores de bananos y plátanos ha sido el de cruzamientos de diploides resistentes a enfermedades fungosas con triploide susceptibles que presentan frutas y características agronómicas deseables. Entre la progenie salen tetraploides que son evaluados para la resistencia a enfermedades. (Shepherd et al, 1.986).

El esquema propuesto por Stover y Budenhagen 1.986, de utilizar cruces entre diploides para luego ser tratados con Colchicina y doblar el número de cromosomas para obtener tetraploides, es bastante utilizado estos cruces sucesivos con diploides pueden generar tetraploides.

Se puede relacionar entonces, entre los tetraploides y cruzar entre ellos generando de nuevo tetraploides los cuales pueden ser relacionados y cruzados con diploides. De la progenie se seleccionan triploides pudiéndose obtener mayor variabilidad para una posterior selección y obtener las características agronómicas deseadas.

De otra parte, el esquema de tetraploides a partir de cruces entre triploides con fertilidad de la hembra y diploides mejorados está dando resultados promisorios en la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola- FHIA y en el International Institute of Tropical Agriculture - IITA en Nigeria.

Los trabajos de P. Rowe en la FHIA, el éxito de más de treinta años de investigaciones, se logro por el mejoramiento de nuevos diploides machos con las características agronómicas deseadas además de la resistencia a enfermedades.

En los últimos cinco años se han obtenido varias líneas con potencial comercial : FHIA 1 (Goldfinger), FHIA 2, 3, 4, 5, 16, 18, 21 y 22. El FHIA 1 (AAAB) es una planta vigorosa, muy productiva y la fruta se consume como banano o plátano, además de presentar resistencia a la Sigatoka negra, al mal de Panamá ( Razas 1 y 4 ) y a los Nemátodos. El FHIA 3 ( AABB) presenta la ventaja de ser cultivado en suelos marginales, además existen indicaciones de ser resistentes al Moko.

En el IITA, Nigeria el programa de mejoramiento para la obtención de plátano resistentes a la Sigatoka negra es más resistente. En 1.987, se empezó por evaluar la colección de plátano AAB teniendo en cuenta las características de fertilidad de la hembra de los cuales encontraron: Obino l'Ewai" y "Bobby Tannap" para cruzarlos con "Calcuta 4" un diploide silvestre (AA) el cual presentaba resistencia al Sigatoka negra.

Swennen y Vuylsteke (1.993) reportan que de 133 híbridos seleccionaron cuatro tetraploides promisorios, tres de los cruces con "Obino l'Ewai" y uno del cruce con "Bobby Tannap".

Los primeros produjeron un racimo bastante más grande que el mismo "Obino l'Ewai", posiblemente por la prolongada persistencia de la hojas debido a la alta resistencia a la Sigatoka negra. Finalmente fueron seleccionados dos de los híbridos obtenidos los cuales presentaban las mejores características agronómicas: precocidad, baja estatura, alto rendimiento y buen desarrollo de brotes.

## **BIOTECNOLOGÍA**

Las alternativas que ofrece la BIOTECNOLOGÍA presentan especial interés en Musaceas debido a los avances realizados para la obtención de clones de banano y plátano tolerantes o resistentes a la Sigatoka negra y otras enfermedades que causan pérdidas en la producción de la fruta.

La necesidad de producir plantas libres de virus en bananos y plátanos a través del cultivo de meristemos ha tenido éxito gracias a los trabajos de Berg y Bustamente en 1.974. Desde entonces, los procedimientos del cultivo se han mejorado considerablemente; de tal manera que se pueda producir en un tiempo relativamente corto gran número de plantas.( Krikorian y Cronauer, 1.983).

Obviamente este método de multiplicación en el caso de enfermedades virales presenta más de un problema. El Virus del Mosaico del Cocombro (C.M.V.) puede ser eliminado, pero no hay certeza de que con otros virus el material esté exento de ellos, por consiguiente se necesitan más investigaciones en esta área.

En el Sureste Asiático donde se presenta mayor variedad de germoplasma del género *Musa*, se encuentra la enfermedad viral denominada "Cogollo Racemoso" o Bunchy Top (Stover, 1.972; Wardlaw 1.972).

Esta es una de las enfermedades virales que hasta ahora no se ha presentado en el hemisferio occidental y debería asegurarse un control riguroso para que no se introduzca en forma inadvertida (Krikorian y Cronauer, 1.983).

Los sistemas de propagación clonal en bananos y plátanos han sido extensamente estudiados en los últimos años (Krikorian y Cronaver, 1.984).

Actualmente se dispone de varias metodologías establecidas para el cultivo y la propagación de distintos genotipo de *Musa* (De Guzmán et al., 1.976; Vessey y Rivera, 1.981; Sore Swamy et al 1.983; Cronauer y Krikorian, 1.984; Banerjee y de Langhe, 1.985; Vuylsteke y De Langhe, 1.985; Jarret et al., 1.985; Novak et al., 1.986; Wong, 1.986; Gupta, 1.986).

De manera exitosa Cronauer y Krikorian (1.985 a,b) emplearon el meristemo floral en banano el cual puede transformarse en un sistema multiplicador de brotes vegetativos adecuado para la propagación masiva. Posteriormente Bakry et al,(1.985) logro igualmente la propagación en bananos utilizando meristemos florales.

La integración de la Biotecnología en el empleo de las Mutaciones, Embriogénesis Somática, Células, Protoplastos y la Ingeniería Genética en los programas de mejoramiento pueden complementarse solucionando las limitaciones al introducir los genes específicos en corto tiempo.

Los avances logrados en los últimos años se han orientado hacia el mejoramiento genético, es así como varios grupos de investigadores a nivel mundial realizan esfuerzos para aumentar la variabilidad genética la cual constituye una alternativa de gran importancia para la selección de clones que presentan resistencia a las enfermedades que atacan las *Musaceas*.

## **VARIABILIDAD GENÉTICA**

La variabilidad genética constituye la base en todos los sistemas de mejoramiento la cual puede ser aumentada en un corto periodo de tiempo mediante los cultivos "in vitro" que al complementarse con los métodos tradicionales de fitotecnia se pueden obtener algunas variaciones en los cultivares típicos y/o desarrollar cultivares con características realmente novedosas.

Las experiencias obtenidas en otros cultivos a través de la inducción de mutaciones, variación somaclonal y/o embriogénesis somática pueden ser aplicadas a todas la especies.

La mutagenesis se relaciona con la modificación del genoma de la planta que puede presentarse en diferentes niveles ya sea afectando el número de ploidía como en cambios de la estructura de los cromosomas o modificaciones de las bases del ADN.

En lo que concierne a las mutaciones naturales es de suponer que el ambiente ha influenciado a través de presiones de selección en la aparición de nuevas características, favoreciendo solamente a las que presentan ventajas en el proceso de adaptación a las condiciones circundantes, (Waltob y Cultis 1.985). Una de las premisas más importantes y que es aceptada como un axioma en la mayoría de los sistemas genéticos es que este tipo de variación espontánea se presenta muy esporádicamente (Chaleff y Torrey, 1.981), lo cual pudo dar origen a las actuales variedades (León, 1.987; Avilán et al, 1.989).

Los sistemas de mejoramiento en los cuales se utilizan las mutaciones inducidas se basan, en que los agentes mutagénicos, físicos o químicos, que producen cambios similares a los que se presentan en las mutaciones naturales, en un periodo de tiempo relativamente corto y en mayor cantidad.

Para los cultivos que se propagan vegetativamente, la utilización de agentes mutagénicos en combinación con los sistemas "in vitro" son de mucha utilidad, en especial cuando se desean modificar ciertas características en una variedad bien establecida puesto que el principal beneficio de este tipo de variación es el de no alterar abruptamente el genoma del cultivar y además de disminuye considerablemente el tiempo en el proceso del mejoramiento.

Broertjes y Van Harten, (1.978), reiteran que los tratamientos mutagénicos ofrecen oportunidad de obtener cambios genéticos discretos sin que se produzca una grave destrucción del genotipo original.

El cultivo de brotes meristemáticos ha sido propuesto como sistema adecuado para la inducción de mutaciones en plátanos y bananos (Donini y Micke, 1.984; Novak et al 1.985, 1.987). De Guzmán y colaboradores (1.975, 1.982) lograron el desarrollo de brotes de banano utilizando radiaciones Gamma con dosis de 25 Gy. Epp, (1.987) publicó el resultado de las irradiaciones Gamma utilizando meristemas derivados al cultivar "Umalag" que es el tipo de Cavendish Grand Nain, cultivado extensamente en Filipinas. Yang y Lee (1.981) lograron igualmente inducir mutantes de banano "Pei-Chiao" y "Hsien-Jen-Chia" sumergiendo las plántulas obtenidas "in vitro" en una solución de 0.1 a 1.0% de Etil-metano-sulfonato (EMS), sin mencionar el grado de quimerismo ocurrido en las plantas totalmente irradiadas.

En el programa de mejoramiento en *Musaceas* que a través de mutaciones lidera el Organismo Internacional de Energía Atómica - OIEA, logró la selección del mutante GN 60A inducido a través de radiaciones gamma.

Se han experimentado en algunos países (Honduras, Malasia, Tailandia, Colombia), para evaluación de características agronómicas incluyendo rendimiento, calidad de la fruta y cosecha. (Novak et al, 1.990). Este nuevo mutante proveniente del Grand Nain que se ha denominado "Novaria" y se caracteriza por su floración temprana, pedicelo grueso en la fruta, agradable sabor y textura suave de la pulpa.

## MANIPULACIONES GENÉTICAS

La evolución científica y técnica es la fuente de ilustración entre la ciencia y la sociedad moderna.

La manipulación genética en vegetales ofrece por medio de la BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA nuevos elementos de análisis a nivel de las moléculas, las células y los tejidos para comprender mejor las características agronómicas de las plantas y por consiguiente para su manipulación. (Calderón et al 1.991).

La Ingeniería genética o tecnología del DNA recombinante se ha incrementado para la modificación de caracteres específicos. Estos sistemas presentan un gran potencial en el mejoramiento de plantas de interés agronómico. La introducción de genes o moléculas a células, protoplastos y embriones somáticos permiten modificar el genoma generando resistencia en los vegetales ya sea a patógenos, a insectos o a condiciones ambientales adversas.

Los logros obtenidos en el desarrollo de los sistemas "in vitro" en Musáceas facilita de manera eficiente las manipulaciones para la inserción de genes en la transformación de bananos y plátanos.

Es así como en los trabajos de embriogénesis somática se han logrado éxito utilizando diferentes partes de la plantas. De Langhe considera, que la embriogénesis somática podría ser en un futuro la clave para el mejoramiento genético en plátanos y bananos (1.986). Cronauer y Krikorian, (1.988) obtuvieron la embriogénesis somática en *Musa ornata*. De igual manera Novak y colaboradores, (1.989) consiguieron el desarrollo sincrónico de embriones somáticos a partir de segmentos de hoja y rizoma en clones diploides y triploides y la regeneración de plantas. De otra parte, Escalant y Teisson (1.988,1.989) lograron la obtención de la embriogénesis somática a partir de embriones zigóticos inmaduros en diploides, luego en 1.994 mejoraron el sistema de embriogénesis somática en bananos y plátanos utilizando flores masculinas. Posteriormente, Bakry y Rossignol, (1.985) y luego Harran y Rossignol (1.991) lograron la formación de embriones somáticos y la regeneración de plantas a partir de inflorescencias en Grand Nain (AAA).

D'Dheda y colaboradores (1.991) obtuvieron la regeneración de plantas de plátanos c.v. "Bluggoe" (*Musa ABB*) a partir de suspensiones celulares. Sannasgala en 1.989 trabajo igualmente con tejido floral para obtener embriones somáticos.

Recientemente Schoofs y colaboradores (1.997) obtuvieron en el laboratorio de la Universidad de Lovaina- Bélgica la embriogénesis somática y regeneración de plantas utilizando "Scalps" de veintún clones de diploides y triploides. Sus estudios histológicos han sido un importante aporte para los trabajos de transformación en *Musáceas*.

Las investigaciones relacionadas con protoplastos en *Musa* han sido realizadas por Krikorian (1.988), Novak et al (1.990) Rossignol (1.991), Mejía et al (1.992) quienes lograron la formación de callos y luego Panis y su grupo (1.993 b) reportó la regeneración de plantas de "Bluggoe-ABB".

Un aporte significativo para la obtención de plantas haploides ha sido el hallazgo de la embriogénesis somática a partir de granos de polen utilizando los "Cultivos Nodriza" en clones diploides. Al regenerar plantas a través de este eficiente sistema se lograrían promisorios avances en el mejoramiento de bananos y plátanos. (Perea, 1.997).

## **PLANTAS TRANSGÉNICAS**

En el transcurso de los dos últimas décadas el desarrollo de los métodos de obtención de plantas transgénicas ha proporcionado una nueva forma de estudiar la expresión de los genes en las plantas.

La introducción de genes modificados en ambientes hospedantes tanto homólogos como heterólogos ha permitido un avance considerable en el estudio de los mecanismos básicos de la regulación genética y en el mejoramiento de los cultivos (Acosta, 1992).

En el caso específico de bananos los trabajos desarrollados a través de los sistemas de transformación por el Organismo Internacional de Energía Atómica - OIEA - Austria (F.J. Novak) y la Universidad de Texas A & M (C. Arntzen) fueron exitosos, se utilizó el Clon Grand Nain para transformar células mediante la utilización del *Agrobacterium tumefaciens* ( May et al, 1.995).

De otra parte, en el laboratorio de Cultivos Tropicales de la Universidad de Lovania que lidera el profesor R.Swennen se logró la transformación de plantas en plátanos (*Bluggoe - ABB*) utilizando protoplastos para insertar genes por electroporación. Posteriormente Sagi y sus colaboradores trabajaron con células embriogénicas del clon *Bluggoe* obteniendo plantas transformadas utilizando el bombardeo de partículas.(Sagi et al 1.994). Estos grupos unifican esfuerzos para avanzar en sus investigaciones orientadas a la transformación de *Musáceas*.

De manera que, las nuevas plantas transgénicas de bananos y plátanos vienen a sumarse a los tomates, pepinos, papa, yuca, arroz, maíz. Esperamos que algún día llegue al plato del campesino de América Latina, Asia y África en plátano *High - Tech*.

La idea de Arntzen de involucrar la *Biología Agrícola* con la *Medicina* para la obtención de vacunas ha sido bastante aceptada por la comunidad científica la cual reacciona con inmensa curiosidad. Esperamos, que en un futuro cercano se podría suministrar a la población mundial bananos o plátanos con la dosis apropiada de la vacuna específica dentro de su dieta normal. Este propósito podrá prevenir en un futuro las enfermedades esféricas causadas por bacterias. (Moffat, 1995).

## CENTRO DE TRANSFERENCIA DE MUSACEAE

Desde 1.984 se estableció en el laboratorio de Cultivos Tropicales de la Universidad de Lovaina, Bélgica, el Centro de Transferencia de *Musaceae* en donde se dispone en condiciones "in vitro" más de de 1.000 accesiones. Este programa se desarrolla con la cooperación internacional, INIBAP y la Universidad de Lovaina, para la distribución de nuevas líneas y variedades a los países productores de banano y plátano. Los productores que desean más información de las nuevas líneas o quienes tengan interés en evaluación pueden dirigirse al Dr. Rony Swennen, Laboratory of Tropical Crop Husbandry, Catholic University of Leuven, Kardinaal Mercierlaan 92, B-3001, Heverlee, Belgium.

## BIBLIOGRAFÍA

Acosta, O. 1.992 - Las plantas transgénicas en el mejoramiento genético 49-59 En: Agricultura Tropical - Vol. 29, No 2. Bogotá.

Avilán, L., F. Leal y D. Bautista 1.989. Manual de Fruticultura. Editorial América. Caracas-Venezuela.

Bakry, F. et al 1.985 Developpmrnt de pousses végétatives a partir de la culture in vitro d'explants inflorescentiels de bananiers (*Musa sp. Musacées*). En Fruits. Vol. 40, No 7-8; p. 459-465.

Broertjes, C. and Van Harten, A.M. 1.978. Application of mutation breeding methods in improvement of vegetatively propagated crop. Amsterdam: Elsevier Scientific Publ.

- Calderón, A., W.M. Roca y Y. Jaynes 1.991. Ingeniería genética y cultivo de tejidos 33 (734-753) *En: Cultivo de Tejidos en la Agricultura - Fundamentos y aplicaciones*. Eds - W.M. Roca y L.A. Mroginski-CIAT-Palmira Colombia.
- Chaleff, R.S. & I.G. Torrey. 1.981 *Genetics of higher plants: application of cell culture*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Cronauer, S.S. y A.D. Krikorian 1.983. Somatic embryos from cultured tissues of triploid plantains (*Musa ABB*). *Plant Cell Rep.* 2:289-291.
- Cronauer, S.S. y A.D. Krikorian. 1.986. Banana (*Musa spp*).pp.233-252 IN Y.P. Bajaj, In. *Biotechnology in Agriculture and Forestry: Trees*. Springer Verlag.
- Cronauer, S.S. y A.D. Krikorian. 1.988. Plant regeneration via somatic embryogenesis in the seeded diploid *Musa Ornata*. *Plant Cell Rep.* 7:23-25.
- Cronauer, S.A. and Krikorian, A.D.1.985 a. Reinitiation of vegetative growth from aseptically cultured terminal floral apex of banana. IN: *American Journal of Botany*. Vol. 72, No 10 p. 1598-1601.
- Cronauer and Krikorian 1.985 b. Aseptic multiplication of banana from excised floral apices. *En: Hortscience*. Vol.20, No 4; p. 770-771
- Dheda, D., F. Dumortier, B. Panis, D. Vuylsteke, y E.De Langhe. 1.991 Plant regeneration in cell suspension cultures of the cooking banana c.v. Bluggoe (*Musa spp ABB group*). *Fruits* 46: 125-135.
- De Guzmán, E.V.; A.G. Del Rosario, and P.C Pagcaliwagan, 1.982. Production of mutants by irradiation of in vitro-cultured tissues of coconut and their mass propagation culture technique. P. 113-138. IN: *Induced mutation in vegetatively propagated plants*. Vienna: IAEA.
- De Langhe, E 1.986 . Una estrategia internacional es necesaria para el mejoramiento genético del plátano y banano. *En: Informe mensual UPEB*. Vol.10, No76; p. 4046.
- Domoni, B.A. and Micke, A. 1.984 Use of induced mutations in improvement of vegetatively propagated crops. P. 79. IN: *Induced mutations for crop improvement in Latin American* - Vienna: (IAEA-TECDOC;305).
- Epp, M.D. *Somacional variation in bananas: a case study with Fusarium wilt*. P. 140-150. *En:Persley, G.J. and de Langhe, E.A. eds banana and plantain breeding strategies*. 187 p.
- Escalant J.V. y C. Teisson 1.988. *Embryogenese somatique chez Musa spp*. *Compte Rendu des Academie des Sciences* 306:277-281.
- Escalant J.V. y C. Teisson. 1.989 *Somatic embryogenesis and plants from immature zygotic embryos of species Musa acuminata and Musa balbisiana*. *Plant Cell Rep.*7:665-668.
- Escalant, J.V., C. Teisson y F Cote. 1.994. *Amplified somatic embryogenesis from male flowers of triploid banana and plantain cultivars (Musa spp) In vitro* - *Cell Dev.Biol.* 30:181-186.
- FAO - *Production Yearbook* 1.995. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome- Italy.
- Krikorian, A.D. and S.S. Cronaver 1.983 - *Tecnicas de cultivo aséptico para el mejoramiento del banano y plátano* , Informe mensual: Unión de Países Exportadores de Banano - UPEB Año 7 No 55 (42.47). Panamá
- May, G.D., R. Afza, H.S. Mason, A. Wiecko. F.J. Novak y C. Arntzen. 1.995. Generation of Transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via Agrobacterium-mediated transformation. *BioTech.* 13:486-492.
- Mejia, R., R. Haicour, L. Rossignol y D. Sihachakr. 1.992. Callus formation from cultured protoplasts of banana (*Musa spp*). *Plant Sci.* 85: 91-98.

- Moffat, A.S. 1.995. Exploring transgenic plants as a new vaccine source. *Science* 268;658-660.
- Novak, F.J., R.Afza, M. Van Duren, M. Perea - Dallos, B.V. Conger y T. Xiaolang. 1.989. Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspensión cultures of dessert (AA and AAA) and cooking (ABB) bananas (*Musa spp*). *Biotech.* 7: 154-159.
- Novak, F, R. Afza y M van Duren 1.989 *Mutagenesis* "in vitro" para el mejoramiento genético del banano y el plátano (*Musa spp*). UPEB, Informe Mensual 88-89. P. 61-80 - Panamá.
- Panis, B., A. Van Wauve y R. Swennen. 1.993. Plant regeneration thorough diree somatic embryogenesis from protoplasts of banana (*Musa spp*). *Plant Cell Rep* 12:403-407.
- Perea-Dallos, M y C. Constabel, 1.996. Estrategias para el mejoramiento de banano y plátano. *Revista Augura*. Edición 1, Año 19 (40-47) Medellin.
- Perea-Dallos, M.1.997- Factors enhancing "in vitro" production of Haploids plants from anthers and isolated microspores of *Musa spp*. IN: *Proceedings: Cellular Biology and Biotechnology including Mutation Techniques for creation of New useful banana genotypes.* (In press.).
- Rowe, P. 1.985. Mejoramiento de bananas y plátanos, UPEB. Centro de Información y Documentación. 19 pp.
- Sagi, L.,S. Remy, B. Panis, R. Swennen y G. Volckaert, 1.994. Transient gene expression in electroporated banana (*Musa spp. Cv. Bluggoe ABB group*) protoplasts isolated from regenerable embryogenetic cell suspensions. *Plant Cell Rep* 13:262-266
- Sagi, L., S. Remy, B. Paris, R. Swennen and G. Volckaert 1.995- Genetic transformation of banana and plantain (*Musa spp.*)via particle Bombardment. *Biotechnology* Vol. 13: 481-485.
- Sannasgala, K.1989. In vitro somatic embryogenesis in *Musa*. Ph. D. Thesis Universitaet Leuven, Belgium. 172 pp.
- Shepherd, K., J.L. Loyola Dantas y E.J. Alves. 1.986.Mejoramiento genético de banano y plátano en Brasil y Honduras. UPEB. Centro de Información y Documentación. Pp. 1-19
- Shoffs, H., 1.997. The origin of embryogenic cells in *Musa* (Ph. D. Thesis- Louvain University - Belgium.).
- Stover R, H and IN. Buddenhagen, - 1.986 Banana breeding: Polyploidy, disease resistance and productivity, *Fruits*, 41 (3) 175-191.
- Stover , R.H. y I.W. Buddenhagen. 1.986 Fitomejoramiento del banano: poliploidía, resistencia a enfermedades y productividad. UPEB. Centro de Información y documentación .pp.20-55.
- Swennen, R. Y D. Vuylsteke. 1.993. Breeding black Sigatoka resistant plantains with a wild banana. *Trop. Agric. (Trinidad)* 70: 74 - 77.
- Walbot, V. and C.A. Cultis. 1.985. Rapid genomic change in higher plants. *Ann Rev. Plant Physiol.* 36:367-396.