

CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA EN GENOTIPOS DE PLÁTANO (*Musa spp*).

Lianet González Díaz¹, Sergio Rodríguez Morales¹, María Isabel Román², Teresa Ramírez Pedraza¹, Miguel Hernández Estrada¹, Yoel Beovides García¹, Osmany Molina Concepción¹, Juan Ramón Gálvez Guerra¹ y Eliécer Reinaldo Álvarez¹.

¹ *Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba*

² *Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Cuba*

RESUMEN

Los plátanos y bananos son cultivos de origen milenario. Su cultivo inspira estudios científicos sobre su genética o producción ecológica. En Cuba, dada la importancia del plátano, es necesario considerar el impacto de la crisis que ha tenido el mismo al ser sometido a los principales problemas fitopatológicos. Esta situación, asociada a los gustos de los consumidores, ha generado la necesidad de nuevas variedades y/o estudios de la base genética existente para mantener la demanda satisfecha al consumidor. El monitoreo de la variabilidad genética utilizando marcadores morfológicos, citogenéticos y moleculares es muy útil, pues son técnicas rápidas y válidas para la detección de esta variabilidad. En este trabajo se realizó la caracterización de 34 genotipos de plátano pertenecientes al genofondo cubano de *Musa spp* y cinco obtenidos por diferentes métodos de mejora, con vistas a determinar la posible variabilidad genética y su comportamiento agronómico para su inclusión en futuros programas de mejoramiento. Se evaluaron 37 descriptores morfológicos, se realizó la determinación del número cromosómico y se estudiaron cuatro sistemas isoenzimáticos. Se determinaron las variables morfoagronómicas más importantes, se comprobó la condición triploide y tetraploide de los materiales y dentro de los subgrupos se pudieron identificar genotipos para los diferentes sistemas isoenzimáticos. Se determinó que los materiales obtenidos por mutagénesis y variación somaclonal resultaron ser nuevas accesiones por presentar diferencias con su donante, encontrándose, una reversión en el nivel de ploidía de uno de ellos, lo que resulta el primer reporte sobre esta temática en el Género *Musa*.

INTRODUCCIÓN

El género *Musa* es una importante fuente de alimento para una gran parte de la población mundial, localizada principalmente en países subdesarrollados de Asia, África y América Central y del Sur. La producción anual se estima en alrededor de 90 millones de toneladas, de este total, 18 millones corresponden al plátano y 72 millones pertenecen al banano (FAO, 2004).

En Cuba, el cultivo de bananos y plátanos es fundamental para lograr el equilibrio de productos en el mercado, el cual constituye un renglón estratégico de elevada prioridad dentro del programa alimentario nacional, (Rodríguez, 2000). Por este motivo se hacen grandes esfuerzos por aumentar las áreas destinadas al mismo (López, 2002).

El ataque de las principales plagas y enfermedades que afectan al cultivo ha limitado e incluso ha llegado a ser imposible el cultivo de algunos clones de gran demanda y calidad comercial como son los del tipo Cavendish (AAA) y plátano (AAB) que fueron devastados por diferentes causas, lo que convierte a la introducción y obtención de nuevos clones y sus tecnologías en una prioridad urgente para lograr satisfacer las necesidades de la población, bajo un sistema de agricultura sostenible.

En los últimos años diversos trabajos se han orientado hacia el mejoramiento genético y es así como varios grupos de investigadores a nivel mundial, realizan esfuerzos para aumentar la variabilidad genética en esta especie. (López, 1989).

Es por ello que en la actualidad no sólo se ha tomado como nueva política varietal en el país para la recuperación del plátano, la introducción de nuevos clones procedentes de la Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas (FHIA) con la aplicación de las nuevas y

mas eficientes tecnologías, sino que a su vez se ha decidido realizar estudios más profundos en la representación de la variabilidad genética existente mediante estudios morfológicos y moleculares, así como el incremento de la misma con materiales obtenidos a través de diferentes métodos de propagación, ya sean tradicionales o biotecnológicos (variación somaclonal, mutagénesis y transformación genética) y para ello contamos con el Banco Nacional de Germoplasma del género *Musa*, el cual es considerado como Colección de Referencia para la región de América Latina y el Caribe.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en el Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT); Santo Domingo, Cuba, durante el período comprendido entre enero del 2000 y diciembre del 2004, enmarcado en un intenso trabajo de Conservación, Caracterización y Evaluación del Germoplasma cubano de *Musa spp.*

El banco de germoplasma del género *Musa* con 325 accesiones se encuentra conservado *ex situ*, de acuerdo a un Diseño Completamente Aleatorizado, sobre un suelo Pardo con carbonatos (Hernández, 1995) y atendido según las labores agrotécnicas del Instructivo Técnico del cultivo (MINAGRI, 1994). La investigación se basó en el estudio de la variabilidad genética existente en 39 genotipos de plátano (Tabla1), 34 procedentes de las accesiones del banco y abarca clones comerciales, clones introducidos de diferentes regiones del Mundo (Sudeste Asiático, África y América Latina) y colectas realizadas en el territorio nacional y otros cinco son selecciones de mutaciones y de variación somaclonal.

Tabla 1. Genotipos que conforman la colección de trabajo analizada del género *Musa*.

Genotipos	Nomenclatura	Procedencia	Subgrupo	Tipo
'FHIA-04'	F04	Honduras	Tetraploides	-
'Navolean'	NAV	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Mzuzu green'	MGR	Tanzania	Plantain	French
'Mzuzu red'	MRD	Tanzania	Plantain	French
'Manzano criollo'	MCR	Cuba	Silk	-
'Hembra ¾'	HTC	Cuba	Plantain	French
'Z-13'	ZTC	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'FHIA-05'	F05	Honduras	Tetraploides	-
'Z-30'	ZTT	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'FHIA-22'	F22	Honduras	Tetraploides	-
'FHIA-20'	F20	Honduras	Tetraploides	-
'Z-30 A'	ZTA	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'FHIA-19'	F19	Honduras	Tetraploides	-
'Selección INIVIT-2'	SI2	Cuba	?	-
'Montaña de Baracoa'	MBC	Cuba	Plantain	French
'FHIA-21'	F21	Honduras	Tetraploides	-
'Nigeriano'	NIG	Nigeria	Tetraploides	-
'Selección INIVIT-1'	SI1	Cuba	?	-
'Saguero gigante'	SGG	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Zanzíbar'	ZNZ	Filipinas	Plantain	Horn
'Criollo-70'	CST	Cuba	Plantain	French-Horn
'Macho indio'	MID	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Macho rojo'	MRJ	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Enano guantanamero'	EGT	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Baguano 1733'	BDT	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'CEMSA ¾'	CTC	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'CEMSA 1735'	CDT	Cuba	Plantain	French-Horn
'Tigre'	TGR	Filipinas	Plantain	French
'Pisang ceylan'	PCL	Filipinas	Silk	-
'Macho ¾'	MTC	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Santa Lucía'	STL	Caribe	Plantain	Pseudohorn

'Mzinyore mejorado'	MMJ	Cuba	Plantain	Horn
'Mkonowatembo-2'	MK2	Tanzania	Plantain	Horn
'Cuba cueto'	CCU	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Mkonowatembo-1'	MK1	Tanzania	Plantain	Horn
'Macho criollo'	MCH	Cuba	Plantain	Pseudohorn
'Mkonowatembo-3'	MK3	Tanzania	Plantain	Horn
'Santo Domingo'	STD	N. Guinea	Maia maoli	-
'Maia maoli'	MML	Filipinas	Maia maoli	-

A cada genotipo seleccionado se les realizaron las caracterizaciones citogenéticas, morfoagronómicas e isoenzimáticas. El nivel de ploidía se determinó por la técnica de conteo de cromosomas. En la caracterización morfoagronómica se evaluaron los descriptores cualitativos y cuantitativos, incluidos en el Sistema de Descriptores Mínimos para el Banano de la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano y el Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (INIBAP-IPGRI-CIRAD, 1996). A partir del estudio del comportamiento de cada una de las variables y teniendo en cuenta los criterios de Varela, (1998), de excluir del análisis final aquellos caracteres que no ofrecen diferencias cuantitativas. Se empleó un Análisis de Componentes Principales para determinar los descriptores que mostraban mayor variabilidad, a partir de una matriz de correlaciones de Spearman (variables cualitativas) y de Pearson (variables cuantitativas). A las variables cualitativas para su análisis, se le asignaron valores consecutivos en las diferentes modalidades. Los autovectores se seleccionaron con valores iguales o mayores a 0,60 según lo establecido en el programa estadístico STATISTICA versión 5.0 (1996). En esta selección también se tomaron en cuenta las correlaciones de las variables con los respectivos ejes y sus coeficientes de determinación según Fundora *et al.* (1992).

Con vistas a conocer las afinidades genéticas entre los genotipos de la colección de trabajo, se realizaron los análisis electroforéticos para cuatro sistemas isoenzimáticos (peroxidasas, polifenoloxidasas, esterases y anhidrasa carbónica). Se establecieron los fenotipos de cada accesión sobre la base de la presencia y posición de cada banda. Se consideró como valor cero la ausencia y como valor uno la presencia de las bandas. A partir de los resultados obtenidos en los electroforetogramas, se establecieron las semejanzas entre los materiales, por el coeficiente de similitud de Apóstol (1993) con el empleo del programa MAT-GEN, Sigarra y Cornide (1995), para obtener la matriz de similitud. La misma fue analizada mediante un análisis de Conglomerados (*Cluster*) (Daviers, 1973) y los grupos se formaron a partir del 50% de afinidad, según lo recomendado por Linares (1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar el estudio de los ápices radiculares de los materiales en estudio se determinó la presencia de 31 accesiones triploides ($2n=3x=33$ cromosomas) y ocho accesiones tetraploides ($2n=4x=44$ cromosomas). Se corroboró que todos los híbridos introducidos de la Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas (FHIA) ('FHIA-04', 'FHIA-05', 'FHIA-19', 'FHIA-20', 'FHIA-21' y 'FHIA-22') son clones tetraploides (44 cromosomas) y se pudo comprobar que los mutantes 'Z-13', 'Z-30' y 'Z-30 A', obtenidos en Cuba por la inducción de mutaciones al clon Zanzíbar, mantienen estable el número cromosómico de la planta que le dio origen (33 cromosomas ($2n=3x=33$), mientras que al analizar a los dos somaclones obtenidos a través de la variación somaclonal, a partir del clon 'FHIA-21', se observó que ocurrieron cambios en el nivel de ploidía en la variante 'Selección INIVIT-2', ya que se observó la presencia de $2n=3x=33$ cromosomas lo cual lo hace una variante somaclonal triploide, mientras que la 'Selección INIVIT-1' mantuvo el número de cromosomas del donante (44 cromosomas). Daniells (2000) plantea que el grupo genómico del clon 'FHIA-21' es AAAB, por lo que a partir de los tamaños diferenciales de los cromosomas de los grupos genómicos A y B según Lysák *et al.* (1999), pudiera explicarse la pérdida de un juego de cromosomas y la reversión del nivel de ploidía al ser sometido a las condiciones del cultivo *in vitro*. Este resultado se considera el primer reporte sobre la temática en el género *Musa*, según la literatura consultada. Los resultados anteriores confirman las investigaciones

realizadas por Jain *et al.* (1998), el cual plantea que con frecuencia durante los procesos de cultivo *in vitro* pueden generarse cambios en el material propagado que llegan a ser muy perjudiciales en este proceso y se señala la influencia de la edad sobre la estabilidad genética como causa importante de variación somaclonal. Por esta razón George (1996) y Vuylsteke (1998) recomiendan renovar los explantes cada cierto número de multiplicaciones. En el análisis de componentes principales para las variables cualitativas se observa que con tres componentes se explica el 51.90% de la variación total, observando que en la componente I, las variables que más aportan con contribuciones positivas a la caracterización son: forma de la yema masculina, forma del ápice de las brácteas, imbricación de las brácteas, pigmentación del tépalo compuesto, color de los lobos del tépalo compuesto, aspecto del tépalo libre, color del estigma, color del ovario y la pigmentación del ovario y con contribuciones negativas están el enanismo y el tipo de yema masculina, mientras que para la componente II, sobresalen las variables, manchas en la base del pecíolo, color de las manchas en la base del pecíolo, posición del raquis y ápice del fruto con contribuciones negativas en todos los casos y en la componente III, las variables que más aportan son el color del pseudotallo y el color de la pulpa madura. En la Figura 1, se muestra la distribución gráfica de la colección de trabajo, de acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de las componentes principales, para los caracteres cualitativos.

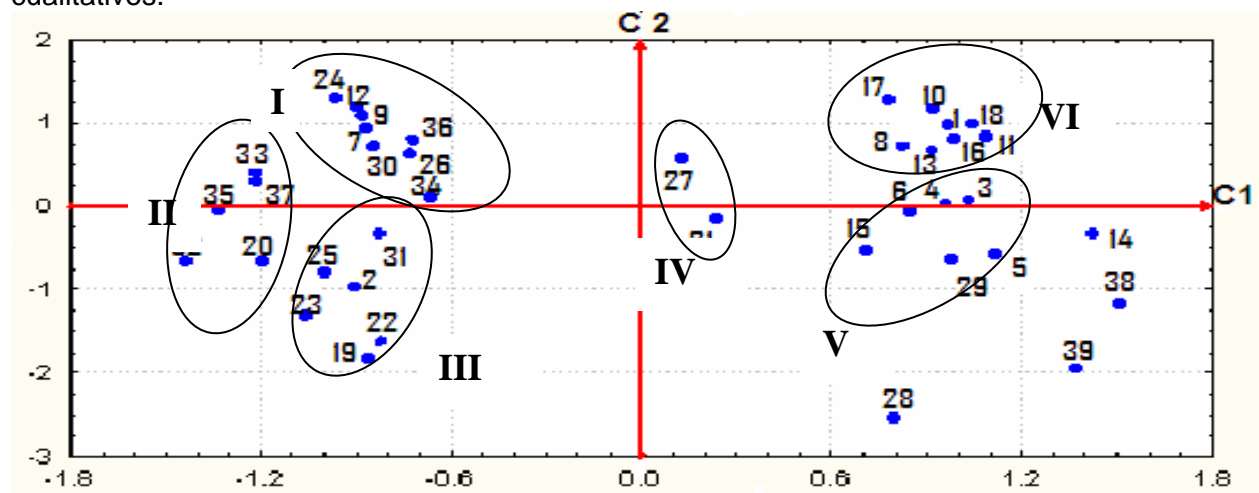


Figura 1. Distribución de las accesiones según el análisis de componentes principales basado en las variables cualitativas analizadas. (1-F04, 2-NAV, 3-MGR, 4-MRD, 5-MCR, 6-HTC, 7-ZTC, 8-F05, 9-ZTT, 10-F22, 11-F20, 12- ZTA, 13-F19, 14-SI2, 15-MBC, 16-F21, 17-NIG, 18-SI1, 19-SGG, 20-ZNZ, 21-CST, 22-MID, 23-MRJ, 24-EGT, 25-BDT, 26- CTC, 27- CDT, 28-TGR, 29-PCL, 30-MTC, 31-STL, 32-MMJ, 33-MK2, 34-CCU, 35-MK1, 36-MCH, 37- MK3, 38-STD, 39-MML)

De acuerdo con la posición de los materiales en el plano comprendido por ambos ejes se formaron seis grupos y las accesiones se agrupan, generalmente, por los subgrupos a los cuales pertenecen, según la clasificación de Simmonds, (1973) y Rodríguez, (1984).

Al analizar en su conjunto al clon 'Zanzíbar' y sus mutantes 'Z-30', 'Z-30 A' y 'Z-13', se pudo observar que estos se separan de su donante, y se establecen en grupos diferentes, debido a las diferencias encontradas al evaluar los descriptores utilizados, entre las que se destacan reversión del tipo *Horn* a *Pseudohorn*, cambios en la coloración del pseudotallo, el cual varió de verde rojizo en el donante a verde medio en las tres variantes seleccionadas; disminución del porte, el cual pasa de porte alto en el 'Zanzíbar' a porte medio en los mutantes y también se observa una disminución del ahijamiento en estos últimos. Resultados similares fueron obtenidos por García *et al.* (2002) al evaluar la variabilidad producida por la inducción de mutaciones y el cultivo de tejidos en el cultivar de banano 'Gran enano' y por Pérez (1998) al comparar la variación somaclonal con la mutagénesis en la caña de azúcar.

Al analizar los somaclones observamos como la 'Selección INIVIT-1' se une en el sexto grupo con todos los clones introducidos de la FHIA ('FHIA-04', 'FHIA-05', 'FHIA-19', 'FHIA-

20', 'FHIA-21' y 'FHIA-22'), los cuales presentan similitud en la mayoría de los variables cualitativas que más aportan a la caracterización, mientras que las diferencias generadas por la reversión en el nivel de ploidía, así como algunas características fenotípicas en el somaclon 'Selección INIVIT-2' provocan que esta variante se separa con las mayores contribuciones positivas en la componente I.

Al analizar las variables cuantitativas estas ofrecen una contribución importante para la caracterización de los materiales estudiados y puede observarse que con dos componentes se explica el 64,50% de la variabilidad total.

En la componente I se encuentran los valores que más contribuyen a la caracterización como son: el diámetro del pseudotallo, peso del racimo, número de manos, número de frutos totales, número de hojas en floración y el número de hojas en la cosecha, mientras que para la componente II las variables que sobresalen sin presentar una contribución significativa, fueron la altura de la planta con contribuciones positivas y la longitud de los dedos con contribuciones negativas

La distribución gráfica de accesiones estudiadas de acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de componentes principales, para los caracteres cuantitativos, se observa en la Figura 2.

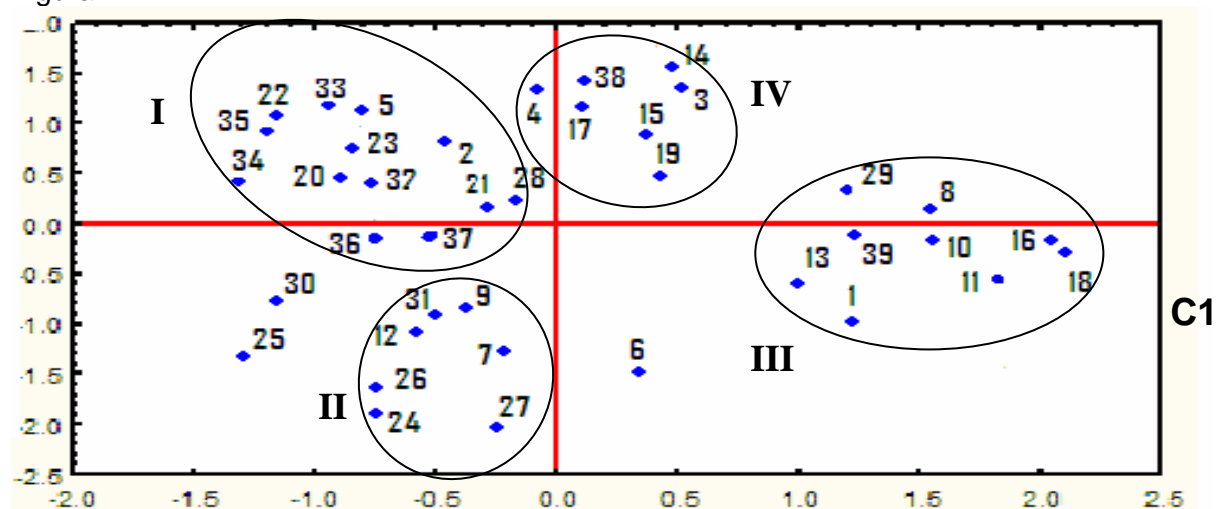


Figura 2. Distribución de las accesiones según el análisis de componentes principales basado en las variables cuantitativas analizadas. (1-F04, 2-NAV, 3-MGR, 4-MRD, 5-MCR, 6-HTC, 7-ZTC, 8-F05, 9-ZTT, 10-F22, 11-F20, 12- ZTA, 13-F19, 14-SI2, 15-MBC, 16-F21, 17-NIG, 18-SI1, 19-SGG, 20-ZNZ, 21-CST, 22-MID, 23-MRJ, 24-EGT, 25-BDT, 26- CTC, 27- CDT, 28-TGR, 29-PCL, 30-MTC, 31-STL, 32-MMJ, 33-MK2, 34-CCU, 35-MK1, 36-MCH, 37- MK3, 38-STD, 39-MML)

Las accesiones se distribuyeron en cuatro grupos, a medida que nos desplazamos hacia la derecha sobre el eje horizontal (componente I) se incrementa el rendimiento, ya que el número de manos, número de frutos por racimo y peso de los racimos aumenta, mientras que en los valores positivos de la componente II se encuentran los clones de mayor altura.

Al analizar en conjunto los mutantes 'Z-13', 'Z-30' y 'Z-30 A' con su donante el clon 'Zanzíbar', se observa que continúan separados, provocado por la disminución del porte en los mismos y en el caso del 'FHIA-21' y los somaclones, continúa muy próximo al donante la 'Selección INIVIT-1' y se aleja la 'Selección INIVIT-2' por sus menores valores en los componentes del rendimiento.

Resultados similares fueron encontrados por Makumbi y Rubaihayo (1995) en la diferenciación de 127 accesiones de bananos en los altiplanos de África Oriental y Central, por Karamura (1998) en la diferenciación de 238 accesiones de bananos en Uganda y por Román (2004) en la caracterización de 40 accesiones de bananos y plátanos del subgrupo *Blugoe*.

El análisis cuantitativo de los zimogramas para los cuatro sistemas isoenzimáticos de la colección de trabajo aparece en la Tabla 2.

Tabla 2: Relación de bandas de los electroforetogramas de los genotipos estudiados.

El sistema de mayor polimorfismo resultó ser las isoenzimas peroxidasas con un 83% donde se pudieron diferenciar clones de los diferentes subgrupos. Con un nivel medio de polimorfismo se encuentran los sistemas esterasas y anhidrasa carbónica donde también se pudieron identificar algunos clones con patrones característicos y el sistema polifenoloxidasas fue totalmente monomórfico.

La Tabla 3 muestra los patrones isoenzimáticos de cada clon para los cuatro sistemas analizados, obtenida por el paquete estadístico MATGEN. Esta tabla permite identificar grupos de clones con identidad genotípica para los cuatro sistemas y los clones que presentan zimotipos únicos para cada sistema. El sistema peroxidasas permite la diferenciación del clon ‘Santo Domingo’, el sistema anhidrasa carbónica se puede emplear como marcador genético-bioquímico en la diferenciación e identificación de los clones ‘Mzuzu red’ y ‘FHIA-04’; mientras que los clones ‘Nigeriano’, ‘Sagüero gigante’ y ‘Montaña de Baracoa’ se pueden identificar empleando el sistema esterasas. Los clones ‘Z-13’, ‘Z-30’ y ‘Z-30 A’, difieren genéticamente de su donante según los resultados obtenidos en los análisis isoenzimáticos, los que además detectan diferencias entre dichos mutantes. De igual forma sucede con los somaclones ‘Selección INIVIT-1’ y ‘Selección INIVIT-2’, que difieren entre ellos en todos los sistemas. El primero sólo puede diferenciarse del donante mediante el sistema peroxidasas, mientras que el segundo es diferente para los cuatro sistemas analizados, por lo que puede ser considerado como un nuevo clon de plátano.

Tabla 3: Patrones electroforéticos obtenidos en los sistemas isoenzimáticos analizados mediante el programa MAT-GEN en la colección de trabajo.

Peroxidasas		Polifenoloxidasas	
Patrones	Clones	Patrones	Clones
111101 -----	1,8,13,25,29,31,34	1111111111	Todos
110111 -----	11,15,16,17		
111011 -----	20,21,22,30		
110101 -----	7,10,12,14		
111111 -----	2,3,4,5,6,9,18,19,23,35,36,37,38		
111001 -----	24,26,27,28,32,33		
000111 -----	39		
Esterasas		Anhidrasa carbónica	
Patrones	Clones	Patrones	Clones
111111 -----	2,3,4,6,8,10,12,16,18,21,22,23,24, 25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,3 7,38,39	1111111111---	6,8,12,21,22,23,24,25, 27,26,28,29,30,31,32, 33,34,35,36,37,38,39
110111 -----	1,5,7,9	0111111111---	15,16,17,18
111001 -----	1,13	0111101111---	11,13,14,19,20
110011 -----	19,14	0101111111----	2,3,5,7
111101 -----	17	0111110111-----	9,10
110001 -----	15	0101110111-----	1
111011 -----	20	1101111111-----	4

Los resultados de este trabajo ponen de manifiesto una vez más, la necesidad de combinar los análisis morfoagronómicos con los estudios genéticos-bioquímicos y citogenéticos en la caracterización de los genotipos, de modo que se pueda conocer el nivel de variabilidad

genética presente en los cultivos y determinar su aprovechamiento en los programas de mejoramiento por vías tradicionales o biotecnológicas.

Es la primera vez en Cuba que estos genotipos de plátano son evaluados de forma conjunta, lo que brinda una valiosa información para su explotación comercial y genética.

CONCLUSIONES

1. Se comprobó la presencia de 31 accesiones triploides con $2n=3x=33$ y ocho accesiones tetraploides $2n=4x=44$, con un cariotipo conformado por cromosomas relativamente pequeños y metacéntricos.
2. Se pudo comprobar que los mutantes 'Z-13', 'Z-30' y 'Z-30 A', obtenidos en Cuba por la inducción de mutaciones al clon Zanzíbar, mantienen estable el número cromosómico de la planta que le dio origen, mientras que en los somaclones obtenidos a través de la variación somaclonal, a partir del clon 'FHIA-21', se determinaron cambios en el nivel de ploidía en la variante 'Selección INIVIT-2', ya que se determinó la presencia de $2n=3x=33$ cromosomas, lo que lo hace diferente a su donante ($2n=4x=44$ cromosomas). Esto constituye el primer reporte sobre la temática en el Género *Musa*.
3. A partir de los análisis morfoagronómicos, se determinaron 17 descriptores cualitativos y seis cuantitativos, como las variables que más aportaron a la diferenciación de los materiales.
4. El estudio morfológico reveló la formación de seis grupos en los análisis cualitativos y cuatro en los cuantitativos, lo que muestra la amplia variabilidad genética presente en estos genotipos.
5. El sistema peroxidasa resultó el más polimórfico en la caracterización genética bioquímica de los materiales estudiados. Dentro de los subgrupos se pudieron identificar genotipos para los diferentes sistemas isoenzimáticos.
6. La composición genómica de los clones mostró una marcada influencia en el agrupamiento de las accesiones según los sistemas isoenzimáticos estudiados.
7. Se consideran como nuevas accesiones los mutantes 'Z-13', 'Z-30', 'Z-30 A' y los somaclones 'Selección INIVIT-1' y 'Selección INIVIT-2'

RECOMENDACIONES

1. Incorporar al banco de germoplasma del cultivo los genotipos 'Z-13', 'Z-30', 'Z-30 A', 'Selección INIVIT-1' y Selección 'INIVIT-2'
2. Profundizar en los estudios del clon Selección INIVIT-2 para su inclusión en los programas de mejora genética de *Musa spp*.
3. Ampliar estos estudios utilizando otros sistemas isoenzimáticos y marcadores moleculares en los clones con idénticos zimotipos.

BIBLIOGRAFÍA

- DAVIERS, J. C. (1973). Statistics and data analysis in geology. I. Winley, Sans Inc, p. 536.
- FAO (2004). Boletín trimestral FAO de Estadísticas 12:3-4.
- FUNDORA, Z.; R. VERA; E. YABOR; O. BARRIOS. (1992). La estadística multivariada en la sanidad vegetal. INIFAT- MINAGRI, La Habana, p. 42.
- GARCIA, R. Y O. MILIAN (1994). La ceniza como una fuente alternativa de fertilizante potásico para el plátano *Musa ABB*. Parte I Efecto sobre el crecimiento y rendimiento. Informe UPEC 17 (98): 56-59.
- GEORGE, E. (1996). Plant propagation by tissue culture:Part 2. The Technology. Exegetics Limited, Edigton, Wilts, England, p. 9-65.
- HERNÁNDEZ, A. 1995. Nueva Versión de Clasificación de los Suelos de Cuba. Instituto de Suelos de Cuba, La Habana, s/p.
- IPGRI/INIBAP/CIRAD. (1996). Descriptores para el Banano (*Musa spp*). Instituto Internacional de Recursos fitogenéticos, Roma, Italia, Red Internacional para el mejoramiento del Banano y el Plátano. Montpellier, Francia; y el Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le developpment, Montpellier, Francia.

- JAIN, S. K.; C. O. QUALSET; G. M. BHAT; K. K. WU. (1998). Geographical patterns of phenotypic diversity in a world collection of durum wheat. *C. Sci* 15:700-704.
- KARAMURA, A. (1998). Numerical taxonomic studies of the East-African Highland bananas (*Musa* AAA-East Africa) in Uganda, A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy. Department of Agricultural Botany the University of Reading, INIBAP, IPGRI, p. 192.
- LINARES, G. (1988). Análisis de datos. La Habana. Pueblo y Educación, p. 590.
- LÓPEZ, Z. M. 1989. El plátano. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba.
- LÓPEZ, J. (2002). Avances y perspectivas para el mejoramiento genético de los bananos (*Musa* spp), por técnicas biotecnológicas y nucleares en el INIVIT. *INFOMUSA* 11 (1): 18-20.
- MAKUMBI, D.; P. R. RUBAIHAYO (1995). Evaluation of Uganda highland banana germplasm African. *Crop Science*. Kampala (UGA) 1:183-187.
- MINAGRI. (1994). Instructivo Técnico para el Cultivo del Plátano.
- PÉREZ, J. P. (1998). Variación somaclonal. Pp105-121 in *Propragación y mejora genética de plantas por biotecnología*. Editora GEO.
- RODRÍGUEZ, N. A. (1984). Genética, Fitomejoramiento y clones de plátano. I Curso de Postgrado "Producción de Plátano". Manuscrito, II parte.
- RODRÍGUEZ MANZANO, A. (2000). Estudio de la variabilidad en el germoplasma de *Colocasia esculenta* (L.) Schott en Cuba. Tesis de doctorado, p.106
- ROMAN, M. I. (2004). Estudio de la variabilidad genética en especies y clones de *Musa* spp. Tesis de Doctorado, Biología vegetal. Universidad de la Habana.
- SIGARROA, A.; M. T. CORNIDE (1995). Manual MAT-GEN. Manual del usuario. Folleto, Facultad de Biología, p.37.
- SIMMONDS. N. W. (1973). Los plátanos. Barcelona. Ed Blume.
- STATISTICA. (1996). Versión 5.0
- VARELA, M. (1998). Análisis multivariados de datos, aplicación a las ciencias agrícolas. Departamento Matemática aplicada, Instituto Nacional de las Ciencias Agrícolas (INCA), La Habana, p. 56
- VUYLESTEKE, D, R. (1998). Field performance of banana micropropagules and somaclones. In: *Somaclonal variation and induced mutation in crop improvement*. Current plant science and biotechnology in agriculture. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, England, p. 219-241.