

PROPAGACIÓN CLONAL DE LA TECA (*TECTONA GRANDIS* L.) MEDIANTE CULTIVO IN VITRO

Autoría principal: Elisa Quiala Mendoza¹

Otros autores: Raúl Barbón Rodríguez, Maité Chávez Milián, Mariana La O Cárdenas, Manuel de Feria Silva, Marta Pérez Peralta y Miladys León Quintana

Colaboradores: María Jesús Cañal Villanueva, Roberto Rodríguez, Luis Valledor González, Rafael Gómez Kosky, Yelenys Alvarado Capó, Mayra Acosta y Zaida Pérez Roque

Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV). Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Cuba. CP 54830. Teléf. (053) (42) 281257 ext. 125. Fax: (053) (42) 281329

¹ Dr.C. Autor de correspondencia. Correo electrónico elisa@ibp.co.cu

Dr.C. Elisa Quiala Mendoza (35%). Participó en el diseño y ejecución de todos los experimentos y en la interpretación de los resultados obtenidos. En la escritura del documento de tesis doctoral y del premio. Autora principal de las publicaciones de los resultados alcanzados.

Dr.C. Raúl Barbón Rodríguez (25%). Dirección científica del proyecto. Tutor de la investigación desarrollada, participó en el diseño de experimentos, la interpretación de los resultados, en la revisión de las publicaciones y en la revisión de la escritura del documento del premio.

MSc. Maité Chávez Milián (15%). Participó en la ejecución de los experimentos de propagación *in vitro*. Mantuvo el banco de plantas *in vitro*.

Dr.C. Manuel A. de Feria Silva (10%). Participó en la interpretación de los resultados y en la revisión de la escritura del documento del premio.

MSc. Miladys León Quintana (5%). Participó en la aclimatización de las plantas.

Téc. Mariana La O Cárdenas (5%). Participó en el subcultivo del material vegetal. Mantuvo el banco de plantas *in vitro* de Teca.

Téc. Marta Pérez Peralta (5%). Participó en el subcultivo del material vegetal. Mantuvo el banco de plantas *in vitro* de Teca.

RESUMEN

La teca (*Tectona grandis* L.) está considerada entre las cinco primeras especies maderables de mayor importancia a nivel mundial y en Cuba se encuentra dentro de las 21 especies forestales priorizadas por el sector estatal forestal para el fomento de plantaciones comerciales. El presente trabajo se realizó con el objetivo de obtener una metodología de propagación clonal *in vitro* de árboles de teca con el empleo de medios de cultivo semisólidos y sistemas de inmersión temporal. Los brotes epicórmicos con una semana de rebrote en el tocón constituyeron el material vegetal más adecuado para la revigorización de los árboles adultos y el establecimiento del banco de plantas donantes. Se desarrolló un protocolo de propagación *in vitro* en medios de cultivo semisólidos y se demostró que el empleo de los sistemas de inmersión temporal durante la etapa final de la fase de multiplicación de los brotes en ausencia de la 6-Bencilaminopurina (6-BAP) o con una concentración de 2,22 μM 6-BAP permitió obtener plantas sin desórdenes fisiológicos, capaces de sobrevivir en un alto porcentaje durante la aclimatización. Los estudios de proteómica realizados mediante MALDI-TOF-TOF permitieron por primera vez obtener el perfil proteómico de la hoja de teca y demostrar que la hiperhidricidad de los brotes es el resultado de una sobreacumulación de citoquininas endógenas en formas activas que disminuyó la expresión de las enzimas de tipo Peroxidasas, afectando la capacidad antioxidante y adaptativa de las plantas. Se logró establecer una relación entre los cambios morfológicos y los desórdenes anatómicos y fisiológicos, lo que permitió definir indicadores tempranos de la calidad de las plantas de teca. Con la metodología descrita se logró aprovechar por primera vez las ventajas de los medios de cultivos líquidos para la propagación *in vitro* de esta especie forestal.

COMUNICACIÓN CORTA

Introducción

La teca (*Tectona grandis* L.) está considerada entre las cinco primeras especies maderables de mayor importancia a nivel mundial y en Cuba se encuentra dentro de las 21 especies forestales priorizadas por el sector estatal forestal para el fomento de plantaciones comerciales por lo que existe la necesidad de incrementar el número de posturas para en corto período de tiempo garantizar la demanda de la industria agroforestal.

Debido a la baja eficiencia de los métodos tradicionales de propagación el cultivo *in vitro* se ha convertido en el método más promisorio para la propagación clonal de plantas de teca a gran escala con alta uniformidad y en un corto período de tiempo (Tiwari *et al.*, 2002). Sin embargo, aunque se han desarrollado diversos trabajos para la propagación *in vitro* de la teca a partir de semillas germinadas *in vitro* y cultivo de ápices procedentes de brotes de árboles adultos (Tiwari *et al.*, 2002; Castro *et al.*, 2003; Gangopadhyay *et al.*, 2003; Yasodha *et al.*, 2005), aún persisten dificultades con el coeficiente de multiplicación, la susceptibilidad de los

brotos a la hiperhidricidad y la fenolización, así como el bajo porcentaje de enraizamiento *in vitro*, por lo que se hace necesario realizar estudios que permitan mejorar la propagación a escala comercial de esta especie (Mendoza *et al.*, 2007).

Por otro lado, los países donde se cultiva la teca (India, Myanmar, Tailandia, Laos, Costa Rica, entre otros) han desarrollado sus propios protocolos de propagación *in vitro* a partir de materiales seleccionados. En Cuba también se han descrito dos protocolos a escala experimental, tanto a partir de material juvenil (Ramírez *et al.*, 2003) como material adulto (Daquinta *et al.*, 2001). Sin embargo, todos estos protocolos se basan en el empleo de los medios de cultivos semisólidos, por lo que tienen como desventajas que los coeficientes de multiplicación son limitados, los altos costos por mano de obra y el uso de agentes gelificantes que limita la posibilidad de automatización. Por otro lado, en el caso de las plantas leñosas las condiciones estáticas en las cuales se desarrolla el cultivo *in vitro* convencional no permiten emplear medios de cultivo líquidos, debido a la alta susceptibilidad de estas especies a desarrollar la hiperhidricidad. Con el empleo de los sistemas de inmersión temporal (SIT) durante la etapa final del cultivo *in vitro* se podría, siempre y cuando se controle la hiperhidricidad, aprovechar las ventajas de los medios de cultivos líquidos y al mismo obtener plantas de mejor calidad.

El presente trabajo tuvo como objetivos:

1. Obtener un protocolo propagación clonal de árboles adultos de *T. grandis* en medios de cultivo semisólidos.
2. Determinar el efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP en la multiplicación, la morfo-anatomía y la fisiología y la supervivencia *ex vitro* de brotes de teca cultivados en Sistemas Inmersión Temporal.
3. Determinar el efecto del 6-BAP en la inducción de cambios morfo-anatómicos, fisiológicos y la respuesta hiperhídrica de los brotes.
4. Identificar proteínas expresadas diferencialmente en los brotes cultivados en los SIT, durante la inducción de la respuesta hiperhídrica.

CAPÍTULO I: Propagación clonal de árboles adultos de *T. grandis* en medios de cultivo semisólidos

En este trabajo se describe el desarrollo de un método eficiente para la propagación clonal vía organogénesis de árboles de teca de más de 30 años de edad. Se estableció un banco de plantas donantes de *T. grandis* en casa de cultivo a partir de brotes epicórmicos de árboles adultos. Con brotes epicórmicos colectados una semana después del rebrote se obtuvo el mayor porcentaje de enraizamiento (47,5%), esto coincidió con el menor grado de metilación del ADN (7%). Los resultados demostraron que la capacidad para formar raíces de los brotes epicórmicos de teca disminuye a medida que aumenta el tiempo de permanencia del rebrote en el tocón y que esta pudo estar influenciada por eventos epigenéticos como la metilación del ADN (***Revista Biotecnología Vegetal*, 8 (1): 51 - 56, 2008**). Una vez establecido el banco de plantas donantes

se tomaron brotes axilares a partir de estas las plantas para el establecimiento *in vitro*. Durante el establecimiento *in vitro* se caracterizó la microbiota de las plantas donadoras, así como los contaminantes fúngicos más frecuentes en los explantes (**Revista Biotecnología Vegetal. 9: 99-103, 2009**). A partir de esta caracterización se aplicó un tratamiento fitosanitario a las plantas quince días antes del establecimiento *in vitro*. Con el empleo de NaOCl al 2% durante 10 minutos y la transferencia de los explantes a medio de cultivo fresco 48 horas después de realizado el establecimiento, se redujo el porcentaje de explantes fenolizados (30%) y se incrementó a un 85% el porcentaje de explantes establecidos *in vitro*. Los mejores resultados durante la multiplicación de los brotes se lograron con la concentración de 4,44 μM de 6-BAP, con 3,0 g.l-1 de Gelrite y con un tiempo de cultivo de 42 días; con lo cual se alcanzaron coeficientes de multiplicación de 5,02 brotes/explante; con solo 0,35 brotes hiperhídricos por planta. Se logró un enraizamiento *in vitro* del 72.5% con la adición de 0,75 mg.l-1 de AIB y 40 g.l-1 de sacarosa al medio de cultivo. Durante la aclimatización a las 4 semanas de cultivo, las plantas propagadas *in vitro* alcanzaron un 70% de supervivencia en un sustrato con 80% de materia orgánica y 20% de zeolita. El 100% de las plantas sobrevivió al trasplante y 10 semanas después de la transferencia *ex vitro* se encontraban listas para la plantación en campo.

CAPÍTULO II: Cultivo de brotes de *T. grandis* en SIT: Efecto de la concentración de 6-BAP en la multiplicación, la morfo-anatomía y la fisiología de los brotes

La investigación realizada durante el cultivo de brotes de teca en los SIT tuvo como objetivo determinar el efecto de la concentración de 6-BAP en la multiplicación *in vitro*, la morfo-anatomía, la fisiología y la supervivencia *ex vitro* de brotes de teca cultivados en estos sistemas semi-automatizados. Se estudió el efecto de tres concentraciones de 6-BAP (2,22; 4,44 y 6,66 μM) y un tratamiento control sin 6-BAP en la multiplicación de los brotes de teca y mediante la evaluación de indicadores morfológicos, anatómicos y fisiológicos se definió la concentración más adecuada. Se observó la anatomía foliar mediante microscopía electrónica de barrido y se realizaron fotomicrografías para el análisis morfométrico del complejo estomático. Las imágenes fueron analizadas y procesadas con ayuda de un software informático (Image Pro Plus). Se detectó la presencia de ligninas en secciones transversales del tallo mediante técnica histoquímica (Tinción de Wiesner, con fluoroglucinol-HCL). Para la caracterización fisiológica del material vegetal, se determinó el contenido de agua a partir de la masa fresca y seca y mediante espectrofotometría se cuantificó el contenido de fenoles totales y de pigmentos fotosintéticos (clorofila a, b y carotenoides); mientras que la cuantificación del contenido endógeno de reguladores del crecimiento se realizó mediante HPLC y espectrometría de Masas. Las plantas obtenidas fueron transferidas a condiciones de casa de cultivo para evaluar el efecto de la concentración de 6-BAP en la supervivencia *ex vitro* de las plantas. Se determinó que el 6-BAP en concentraciones de 4,44 y 6,66 μM disminuyó la calidad de los brotes al provocar un incremento del contenido de agua en los

mismos, desórdenes en el aparato estomático, el desarrollo de un sistema vascular hipolignificado, disminución del contenido de sustancias antioxidantes y una sobreacumulación de citoquininas en formas activas; esto se correspondió con un menor porcentaje de supervivencia *ex vitro*. El mejor resultado se logró con el tratamiento de 2,22 μM de 6-BAP, las plantas obtenidas desarrollaron desde la fase *in vitro* características estomáticas similares a las plantas *in vivo*, con un sistema vascular bien lignificado, sin efecto residual de CK activas, un alto contenido de sustancias antioxidantes de naturaleza fenólica y de reguladores del crecimiento de respuesta a estrés biótico y abiótico; estas características determinaron una mayor supervivencia durante la fase de aclimatización (91,7%). Los resultados demostraron que en los SIT con una concentración de 2,22 μM de 6-BAP se logran condiciones de cultivo que permiten mantener los coeficientes de multiplicación alcanzados en medios de cultivos semisólidos (4,1 brote/explante) y al mismo tiempo la activación temprana en dichas plantas de mecanismos de respuestas a los cambios ambientales que son esenciales para su adaptación a las condiciones *ex vitro*. (***Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 109:223–234, 2012**).

CAPÍTULO III: Cultivo de brotes de *T. grandis* en SIT: Efecto del 6-BAP en la inducción de cambios morfo-anatómicos, fisiológicos y la respuesta hiperhídrica

Se comparó mediante la evaluación de los indicadores morfológicos y fisiológicos descritos anteriormente la morfo-anatomía y la fisiología de tres tipos de brotes cultivados en los SIT con 4,44 μM de 6-BAP, los cuales presentaban cambios morfológicos (Tipo 1, Tipo 2 y Tipo 3). Se estudiaron los cambios de expresión diferencial de proteínas en estos tipos de brotes cultivados con 6-BAP mediante la comparación de su perfil proteómico con el de brotes cultivados sin reguladores del crecimiento (control). Al no existir en la literatura internacional antecedentes de estudios de proteómica en teca fue necesario establecer el perfil proteómico de la hoja teca como paso previo a los estudios de expresión diferencial. Se obtuvo el perfil proteómico de la hoja de teca a partir de 100 proteínas identificadas mediante espectrometría de masas y el análisis de la huella peptídica recogida en bases de datos (sistema MALDI-TOF-TOF) y se identificaron 7 proteínas probablemente específicas de la especie (***Proteomics*, 12:1–12 (2012)**). Mediante la identificación de proteínas expresadas diferencialmente, se pudo determinar que la respuesta hiperhídrica inducida por el 6-BAP en los brotes, estuvo asociada a una sobreacumulación de citoquininas endógenas en formas activas, que disminuyó la expresión de varias enzimas implicadas en diferentes rutas metabólicas principalmente de tipo Peroxidasa. Esto afectó la capacidad antioxidante de los brotes, la xilogénesis, la biosíntesis de la pared celular y la lignificación; lo que constituyó la causa principal de la hiperhidricidad y de la baja capacidad adaptativa de estos brotes.

Novedad Científica:

El trabajo científico realizado constituye, hasta el momento, el más abarcador realizado a nivel internacional sobre el papel inductor de las citoquininas en la inducción de la respuesta hiperhídrica y brinda la teoría más completa sobre la causa de este fenómeno en las plantas cultivadas *in vitro*. Se describe la respuesta de los brotes de teca al incremento de la concentración de 6-BAP en los SIT, mediante la evaluación de diferentes variables morfo-anatómicas y fisiológicas, como es la caracterización de la anatomía foliar mediante microscopía electrónica de barrido y el análisis morfométrico del complejo estomático mediante software informático. Así como la determinación del contenido de agua, de fenoles totales, la detección de ligninas en secciones transversales del tallo, la determinación del contenido de pigmentos fotosintéticos y de reguladores endógenos del crecimiento, aspectos nunca antes descritos en la literatura internacional para la teca. Se logró establecer el perfil proteómico de la hoja de teca y se detectaron 7 nuevas proteínas que podrían ser específicas de la teca y que trazan el camino a seguir en futuros estudios de proteómica en esta especie. El estudio de expresión diferencial de proteínas abordado en este trabajo no tiene precedentes en la literatura internacional, este permitió mediante espectrometría de masas y el análisis de la huella peptídica recogida en bases de datos (sistema MALDI-TOF-TOF), identificar proteínas expresadas diferencialmente inducidas por el 6-BAP y asociadas con la respuesta hiperhídrica.

Beneficios alcanzados:

El empleo de los medios de cultivos líquidos para la propagación de especies forestales, descritas en la literatura internacional se reduce a solo 4 especies, entre otros factores, la principal limitante ha sido la hiperhidricidad. La metodología descrita en este trabajo con el empleo combinado de medios de cultivos semisólidos y sistemas de inmersión temporal, estos últimos en la etapa final del cultivo *in vitro*, permiten aprovechar por primera vez las ventajas de los medios de cultivos líquidos para la propagación de la teca (**ver Anexo 1**). Los resultados obtenidos han servido de base para la elaboración de un instructivo técnico para la propagación comercial en biofábricas de esta especie (**Instructivo Técnico para la Propagación *in vitro* de la Teca, 2010**), este instructivo forma parte del paquete tecnológico de la Biofábrica del IBP. En dicha área con la aplicación de este protocolo se han producido un total de 3500 plantas las cuales han sido entregadas a la empresa Forestal de Villa Clara y a la Empresa de Desmonte y Construcción de esta provincia. Por otro lado, la evaluación y el análisis de indicadores morfo-anatómicos y fisiológicos asociados al 6-BAP y los estudios de proteómica contribuyeron a un mejor entendimiento de los cambios bioquímicos y moleculares asociados al efecto inductor de las citoquininas en la respuesta hiperhídrica de los brotes propagados. Se estableció un diseño experimental que sienta las bases metodológicas para el estudio de la fisiología de las plantas forestales cuando son cultivadas en los SIT y se logró establecer a nivel internacional las bases y procedimientos para los estudios de proteómica en la especie *T. grandis*. Por otro lado, tomando como referencia los estudios realizados

en la teca, los resultados y conocimientos obtenidos sirven de base para el empleo de los SIT en la propagación de otras especies agroforestales y leñosas.

Publicaciones realizadas que guardan relación con el presente trabajo:

1. E. Quiala, Cañal, M.J, Meijón, M., Rodríguez, R., Chávez, M., Valledor, L. y Barbón, R. (2012) Morphological and physiological responses of proliferating shoots of teak to temporary immersion and BA treatments. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **109:223–234. (Factor de Impacto: 3,6)**
2. Proteomic profiling of *Tectona grandis* L. leaf. (2012) E. Quiala, Rodríguez, R., Cañal, M.J, Meijón, M., Barbón, R., Chávez, M. y Valledor, L. (2012) *Proteomics*, **12:1–12. (Factor de Impacto: 4,1)**
3. Acosta-Suárez M., Y. Alvarado-Capó, M Cruz-Martín, Leiva-Mora M, C. Sánchez-García, Roque B., Quiala E., Chávez M., Jiménez-Terry F., la O M., Barbón R., Collado R., Rodríguez M., de Feria M., Borroto I y Pérez M (2009) Microbiota de plantas donadoras y contaminantes fúngicos del establecimiento *in vitro* de especies forestales. *Revista Biotecnología Vegetal*. **9: 99-103.**
4. E. Quiala, L. Valledor, R. Hazbun, R. Barbón, M.J Cañal y R. Rodríguez (2007) Estandarización de protocolos para la cuantificación del grado de metilación de ADN genómico de brotes epicórmicos de *Tectona grandis* L. *Revista Biotecnología Vegetal*. **7: 55-60.**

Presentación en Eventos Internacionales

1. IX Simposio Internacional de Biotecnología de las Plantas. Abril de 2010, Villa Clara, Cuba.
2. VII Encuentro Latinoamericano y del Caribe sobre Biotecnología Agropecuaria REDBIO. México 2010. Guadalajara, Jalisco, México, 2010.
3. VIII Encuentro Internacional de Biotecnología Vegetal BIOVEG´2011. Ciego de Ávila, Cuba 2011.
4. X Simposio Internacional de Biotecnología de las Plantas. Abril de 2011, Villa Clara, Cuba
5. 1er taller Internacional —Los biorreactores un puente del laboratorio a la tierra. Septiembre, 2012. CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Tesis doctoral

_ *Efecto de la 6-Belcilaminopurina en la morfo-anatomía y la fisiología de brotes de T. grandis L. cultivados en los sistemas de inmersión temporal.* Autor: Elisa Quiala Mendoza. (2013). Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de Biotecnología de Las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba.

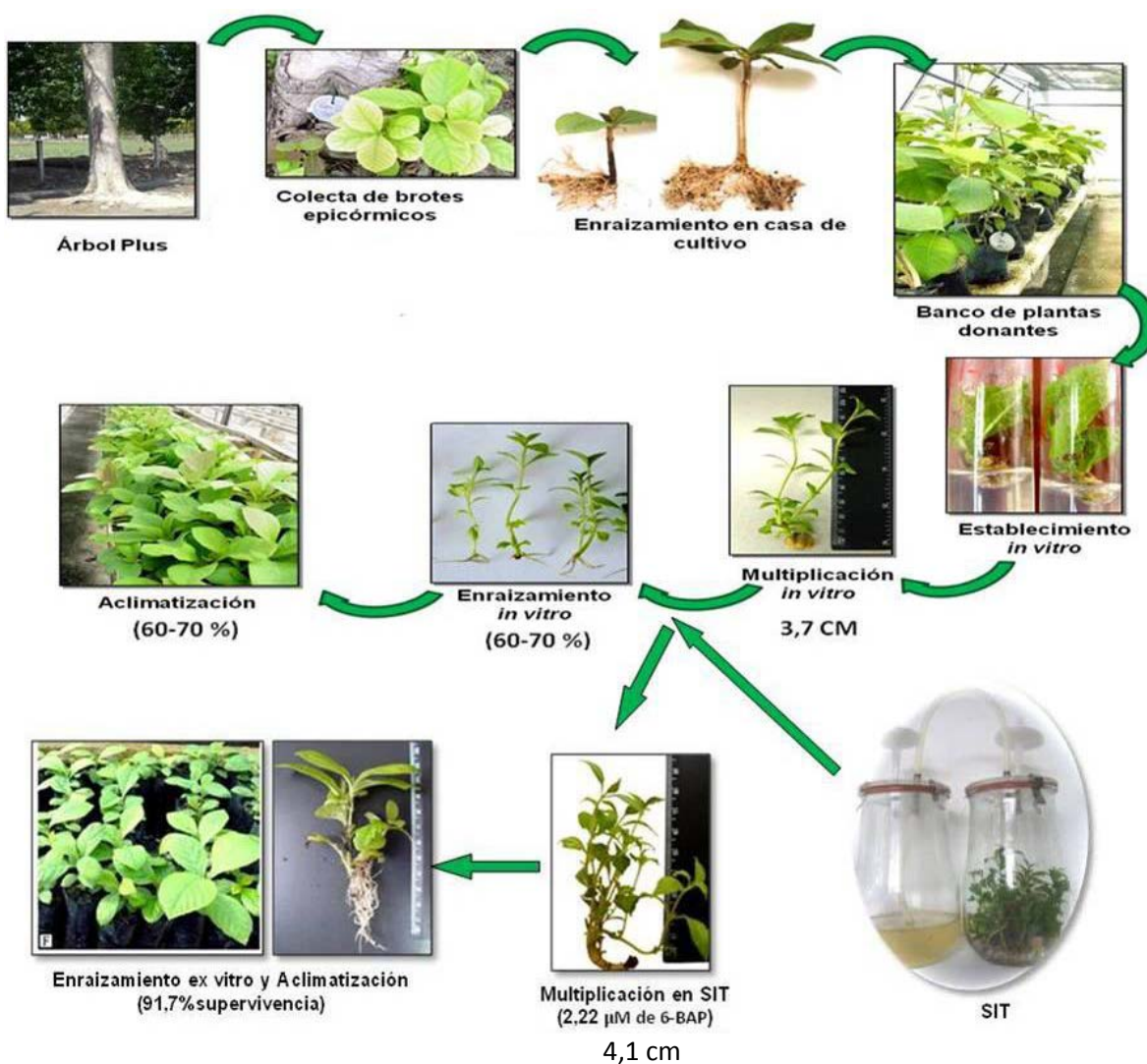
Tesis de Maestría

_ *Propagación in vitro de Tectona grandis L. a partir de ápices de brotes axilares de plantas de origen epicórmico.* Autor: Marcos Vinicio Jiménez Tello (2008). Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de Biotecnología de Las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba.

Instructivo Técnico

_ Instructivo técnico para la propagación *in vitro* de la teca (*T. grandis*). Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de Biotecnología de Las Plantas (Biofábrica IBP). Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba

Anexo



Esquema para la propagación *in vitro* de la teca empleando medios de cultivos semisólidos y sistemas de inmersión temporal (SIT)

Referencias bibliográficas

- (1) Abdelnour A y Muñoz A (2005) Micropropagación de teca (*Tectona grandis* L.). Revista Forestal Kuru 5: 1-11.
- (2) Abril N, Gion JM, Kerner R, Müller-Starck G, Cerrillo NR, Plomion C, Renaut J, Valledor L, Jorrin-Novo JV (2011) Proteomics research on forest trees, the most recalcitrant and orphan plant species. *Phytochemistry* 233-254.
- (3) Afreen F, Zobayed SMA, Kozai T (2002) Photoautotrophic culture of *Coffea arabusta* somatic embryos: development of a bioreactor for large scale plantlet conversion from cotyledonary embryos. *Annals of Botany* 90, 21-29.
- (4) Afroz A, Ali GM, Mir A, Komatsu S (2011) Application of proteomics to investigate stress-induced proteins for improvement in crop protection. *Plant Cell Rep* 30:745–763
- (5) Agarwal R, Matros A, Melzerc M, Mockb HP, Sainisa JK (2010) Heterogeneity in thylakoid membrane proteome of *Synechocystis* 6803. *Journal of Proteomics* 73: 976-991.
- (6) Agudelo N (2002) Requerimientos edáficos para Caoba. El Zamorano (Honduras). Escuela Agrícola Panamericana. (Página web en línea) Disponible en: www.fao-sict.un.hn/ensayos/unload/770.pdf.
- (7) Aguilar ML, Espadas FL, Coello J, Maust BE, Trejo C, Robert ML, Santamaria, JM (2000) The role of abscisic acid in controlling leaf water loss, survival and growth of micropropagated *Tagetes erecta* plants when transferred directly to the field. *Journal of Experimental Botany*, vol. 51, No. 352, pp. 1861-1866.
- (8) Ahsan N, Lee DG, Lee SH, Kang KY, Lee JJ, Kim PJ (2007) Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere* 67:1182–93
- (9) Aitken-Christie J, Jones C (1987) Towards automation: radiate pine shoot hedges in vitro. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 8:185–196.
- (10) Aitken-Christie J, Kozai T, Takayama S (1995) Automation in plant tissue culture – general introduction and overview. In: Aitken-Christie J, Kozai T, Smith L (eds) *Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 1–18.
- (11) Akram M y Aftab F (2008) High frequency multiple shoot formation from nodal explants of teak (*Tectona grandis* L.) induced by thidiazuron. *Propag Ornament Plant*, 8: 72-75.

- (12) Akula A, Becker D, Bateson M (2001) High-yielding repetitive somatic embryogenesis and plant recovery in a selected tea clone, TRI-2025, by temporary immersion. *Plant Cell Rep.* 19: 1140-1145
- (13) Albacete A, Ghanem ME, Martínez-Andújar C, Acosta M, Sánchez-Bravo J, Martínez V, Lutts S, Dodd IC, Pérez-Alfocea F (2008) Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinised tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Journal of Experimental Botany* 59, 4119–4131.
- (14) Albarrán J, Bertrand B, Lartaud M, Etienne H (2005) Cycle characteristics in a temporary immersion bioreactor affect regeneration, morphology, water and mineral status of coffee (*Coffea Arabica* L.) somatic embryos. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 81:27–36.
- (15) Alfaro C (2004) Proyecto de investigación interinstitucional. Ciencia y tecnología. Micropropagación de caoba, Piñón y Teca. No 24. [Página web en línea] Disponible en: www.conicit.go.cr/boletin/boletin24/index.html.
- (16) Aloni R. (2001) Foliar and axial aspects of vascular differentiation: Hypotheses and evidence. *J. Plant Growth Regul.* 201: 22 – 34.
- (17) Alvard D, Cote F, Teisson C. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 32: 55-60.
- (18) Antonio, G.; Rodríguez, R.; Cid, M.; Pina, D.; González-Olmedo, J. 2004. Efecto de un análogo de Brasinoesteroides (MH5) en la propagación de *Eucalyptus urograndis* en Biorreactores de Inmersión Temporal. *Cultivos Tropicales.* 25: 39-44.
- (19) Apóstolo NM, LLorente B (2000) Anatomy of the normal and hyperhydric leaves and shoots of in vitro grown *Simmondsia chinensis* (Link) Schn. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 36: 243–249.
- (20) Aragón C, Carvalho L, González J, Escalona M, Amancio S (2009) Sugarcane (*Saccharum* sp. Hybrid) propagated in headspace renovating systems shows autotrophic characteristics and develops improved anti-oxidative response. *Trop Plant Biol* 2:38–50.
- (21) Aragón CE, Carvalho L, González J, Escalona M, Amancio S (2010b) *Ex vitro* acclimatization of plantain plantlets micropropagated in temporary immersion bioreactor. *Biol Plant* 54:237–244.
- (22) Aragón CE, Escalona M, Rodriguez R, Cañal MJ, Capote I, Pina D, González-Olmedo J (2010a). Effect of sucrose, light, and carbon dioxide on

plantain micropropagation in temporary immersion bioreactors. *In Vitro Cell Dev Biol - Plant* 46: 89–94.

- (23) Aranjuelo I, Molero G, Erice G, Avice JC, Nogués S (2011) Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.) *Journal of Experimental Botany* 62: 111–123.
- (24) Argita L, Fernández AG, González A, Tamés RS (2005) Effect of the application of benzyladenine pulse on organogenesis, acclimatization and endogenous phytohormone content in kiwi explants cultured under autotrophic conditions. *Plant Physiol. Biochem.* 432: 161 – 167.
- (25) Asada K (1992) Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide – scavenging enzyme in plants. *Physiol Plant.* 85: 235–241.
- (26) Ayliffe M, Jin Y, Kang ZS, Persson M, Steffenson B, Wang SP, Leung H (2011) Determining the basis of nonhost resistance in rice to cereal rusts. *Euphytica* 179:33–40.
- (27) Bandyopadhyay T, Gangopadhyay G, Poddar R, Mukherjee K (2004) Trichomes their diversity, distribution and density in acclimatization of Teak (*Tectona grandis* L.) plants grown in vitro. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 78:113–121.
- (28) Barrero JM, Piqueras P, Gonzalez-Guzman M, Serrano R, Rodriguez PL, Ponce MR, Micol JL (2005) A mutational analysis of the ABA1 gene of *Arabidopsis thaliana* highlights the involvement of ABA in vegetative development. *J. Exp. Bot* 56: 2071–2083.
- (29) Bassi R y Caffarri S (2000) Lhc proteins and the regulation of photosynthetic light harvesting function by xanthophylls. *Photosynthesis Research* 64: 243–256, 2000.
- (30) Berthouly M y Etienne H (2005) Temporary immersion systems: a new concept for use liquid medium in mass propagation. En: Hvoslef-Eide A. K. y Preil W. (Springer Ed). *Liquid Culture Systems or in vitro Plant Propagation*. pp. 165-195.
- (31) Berthouly M, Dufour M, Alvard D, Carasco C, Alemano L, Teisson C (1995) Coffee micropropagation in a liquid medium using the temporary immersion technique. In: ASIC Publishers (eds) 16th International Scientific Colloquium on Coffee, Kyoto, Japon. Vevey, Switzerland. pp. 514-519.
- (32) Berthouly M, Etienne H (2005) Temporary immersion systems: a new concept for use liquid medium in mass propagation. En: Hvoslef-Eide A. K. y Preil W. (Ed). *Liquid Culture Systems or in vitro Plant Propagation*. Springer. pp. 165-195.

- (33) Bianco L, Lopez L, Scalone AG, Di Carli M, Desiderio A, Benvenuto B, Perrotta G (2009) Strawberry proteome characterization and its regulation during fruit ripening and in different genotypes, *Journal of proteomics* 72, 586 – 607.
- (34) Billard C y Lallana V (2005) Multiplicación in vitro de *Eucalyptus dunnii*. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 16 (30): 192-216. [Página web en línea] Disponible en: www.redalyc.uaemex.mx.
- (35) Borderies G, Jamet E, Lafitte C, Rossignol M, Januneau A, Boudart G, Monsarrat B, Esquerré-Tugayé MT, Boudet A y Pont-Lezica R. 2003. Proteomics of loosely bound cell wall proteins of *Arabidopsis thaliana* L. cell suspension cultures: a critical analysis. *Electrophoresis* 24: 3421-3432.
- (36) Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 86: 248-254.
- (37) Cabasson C, Alvard D, Dambier D, Ollitrault P, Teisson C (1997) Improved Citrus somatic embryo development by temporary immersion. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 50: 33-37.
- (38) Cabrera JM, Gómez-Kosky R, Cabrera RA, De Fera M, Basail MP, Medero VV, López TJ (2011) Performance of yam microtubers from temporary immersion system in field conditions *African Journal of Biotechnology* 10: 9268-9271.
- (39) Cabreras M (2009) Formación de microtubérculos de ñame (*Dioscorea alata* L.) en sistemas de inmersión temporal como material vegetal de plantación. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas: 100p.
- (40) Cañal MJ, Fernández H, Fernández P, Centeno ML, Fernández B (2000) Uptake and metabolism of 6-benzyladenine in ventilated cultures of Kiwifruit plants. *Plant Growth Regulation* 30: 209-214.
- (41) Casado V (2004) Aproximación cinética, molecular y proteómica al estudio de podredumbre apical en frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* M). Implicación de la polifenol oxidasa (PPO) y enzimas antioxidantes. Tesis doctoral. Universidad de Alicante. p 231
- (42) Cassells AC y Curry RF (2001) Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 64: 145–157.

- (43) Castro D y González-Olmedo J (2002) Micropropagación de eucalipto (*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden) en el sistema de inmersión temporal. *Agricultura Técnica* 62:68–78.
- (44) Castro D, Díaz J, Linero JC (2002) Propagación clonal in vitro de árboles élite de Teca (*Tectona grandis* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología* 4(1):49-53.
- (45) Castro FJ, Mora DF (2007) Establecimiento in vitro y pruebas preliminares de micropropagación en medio semisólido y líquido de frambuesa (*Rubus idaeus* L.). *Tecn. en Marcha*. Vol. 20-3.
- (46) Centeno ML, Rodríguez A, Feito I, Fernández B (2003) Uptake and metabolism of N⁶-benzyladenine and l-naphthaleneacetic acid and dynamics of indole-3-acetic.
- (47) Chacón AG, Sabono F, Gómez L, Torres S, Valverde R (2000) El tipo de gelificante en el desarrollo in vitro y la aclimatización de plantas de Yampi (*Dioscorea trifida*) y ñame (*Diocorea alata*). *Agronomía Costarricense* 24(2):57-64.
- (48) Chakrabarty D, Dewir Y H, Hahn E J, Datta SK, Paek KY (2007) The dynamics of nutrient utilization and growth of apple root stock 'M9 EMLA' in temporary versus continuous immersion bioreactors. *Plant Growth Regul* 51:11–19.
- (49) Chakrabarty D, Subodh A (2008) Micropropagation of gerbera: lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities during acclimatization process. *Acta Physiol. Plant* 30: 325-331.
- (50) Chávez MM (2007) Propagación de *Tectona grandis* L. en sistemas de inmersión temporal. Tesis de Pregrado. p 60.
- (51) Chen J, Ziv M (2001) The effect of ancymidol on hyperhydricity, regeneration, starch and antioxidant enzymatic activities in liquid-cultured *Narcissus*. *Plant Cell Rep* 20: 22–27.
- (52) Criado MV, Caputo C, Roberts I, Castro MA, Barneix AJ (2009) Cytokinin-induced changes of nitrogen remobilization and chloroplast ultrastructure in wheat (*Triticum aestivum*) *Journal of Plant Physiology* 166: 1775-1785.
- (53) Cristina-Maria V, Lalanne C, Plomion C, Schlink K (2008) Heat induced changes in protein expression profiles of Norway spruce (*Picea abies*) ecotypes from different elevations. *Proteomics* 8:4287–4302.

- (54) Cruz N y Ramos L (2003) Micropropagación clonal in vitro de árboles seleccionados de *Tectona grandis* L. (Teca). *Agronomía Costarricense*: 1-5.
- (55) Damiano C, La Starza SR, Monticelli S, Gentile A, Carboni E, Frattarelli A (2005) Propagation of *Prunus* and *Malus* by temporary immersion. En: Hvoslef-Eide AK y Preil W (Springer Dordrecht Eds) *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*, pp. 243-251.
- (56) Daquinta M, Ramos L, Capote I, Lezcano Y, Rodríguez R, Trina D, Escalona M (2001) Micropropagación de la teca (*Tectona grandis* L.). Comunicación técnica. *Revista Forestal Centroamericana*: 25-28.
- (57) De Camino RV, Alfaro MM, Sage LFM (1998) Teak (*Tectona grandis* L.) in Central America, Forest Plantations Working Papers. Roma, IT, FAO. (Working Paper FP/19): 64 p.
- (58) De Feria M, Jiménez E, Barbón R, Capote A, Chávez M, Quiala E (2003) Diferenciación y germinación de embriones somáticos de *Coffea arabica* L. cv. Catimor 9722 obtenidos en agitador orbital. *Revista de Biotecnología Vegetal*, 2: 15-19.
- (59) De Klerk GJ (2002) Rooting of microcuttings: theory and practice. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 38: 415–422.
- (60) De Smet I, Signora L, Beeckman T, Inze D, Foyer CH, Zhang H (2003) An abscisic acid sensitive checkpoint in lateral root development of *Arabidopsis*. *Plant J* 33: 543–555.
- (61) Debergh PC (1983) Effects of agar brand and concentration on the tissue. *Plant* 59: 270–276.
- (62) Debergh PC, Aitken-Christie J, Cohen D, Grout B, von Arnold S, Zimmerman R, Ziv M (1992) Reconsideration of the term vitrification as used in micropropagation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 30: 140–165.
- (63) Debergh PC, Harbaoui Y, Lemeur R (1981) Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*): Evaluation of different hypotheses to overcome vitrification with special reference to water potential. *Physiol Plant* 53: 181–187.
- (64) del Valle JRE, Castañeda CG, García SP, Mendoza RNM, y Castillo MMC (2001) Efectos de los ácidos acetilsalicílico e indolbutírico en el enraizamiento *in vitro* y rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Rev. Fitotec. Mex* 24:71 – 78.

- (65) Desjardins Y (1995) Photosynthesis in vitro on the factors regulating CO₂ assimilation in micropropagation systems. *Acta Hort.* 393: 345-353.
- (66) Desjardins Y (2007) How —Micropropagation-Omics || can contribute to a better understanding of phenomena taking place in plant tissue culture. *Acta Hort.* 748: 39-54.
- (67) Dietz K, Horling F, König J, Baier M (2002) The function of the chloroplast 2-cysteine peroxiredoxin in peroxide detoxification and its regulation. *J. Exp. Bot.* 53: 1321-1329.
- (68) Downs C.G, Somerfield SD, Davery MC (1997) Cytokinin treatment delays senescence but not sucrose loss in harvested broccoli. *Postharvest Biol. Technol.* 112: 93 – 100.
- (69) Dubos C y Plomion C (2003) Identification of water-deficit responsive genes in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) roots. *Plant Mol. Biol.* 51, 249–262.
- (70) Ducos JP, Alenton R, Reano JF, Kanchanomai C, Deshayes A, Pétiard V (2003) Agronomic performance of *Coffea canephora* P. trees derived from large-scale somatic embryo production in liquid medium. *Euphytica* 131:215–223.
- (71) Durrant WE, Dong X (2004) Systemic acquired resistance. *Annu Rev. Phytopathol.* 42: 185–209. Enciclopedia de Genes y Genoma de Kioto (KEGG) [Página web en línea] Disponible en: <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>
- (72) 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 Rep* 18:743–748.
- (73) Escalona M, Samson G, Borroto C, Desjardins Y (2003) Physiology of the effects of Temporary Immersion Bioreactors on micropropagated pineapple plantlets. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 39: 651-656.
- (74) Escalona M (2006) Temporary immersion beats traditional techniques on all fronts. *Prophyta annual*: 48-50.
- (75) Etienne H, Bertrand B, Anthony F, Côte F, Berthouly M (1997a) L'embryogenèse somatique: un outil pour l'amélioration génétique du caféier. In: ASIC Publishers (eds) 17th International Scientific Colloquium on Coffee, Nairobi, pp 457–465.

- (76) Etienne H, Lartaud M, Michaux–Ferrière N, Carron MP, Berthouly M, Teisson C (1997b) Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* (Müll. Arg.) using the temporary immersion technique. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 33: 81–87.
- (77) Etienne HP y Berthouly M (2002) Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 69:215–231.
- (78) Etienne–Barry D, Bertrand B, Vásquez N, Etienne H (1999) Direct sowing of *Coffea arabica* somatic embryos mass-produced in a bioreactor and regeneration of plants. *Plant Cell Rep.* 19:111–117.
- (79) Fermino–Júnior PCP, Nagao EO, Scherwinski-Pereira JE (2009) Estabelecimento, germinação e multiplicação in vitro de teca (*Tectona grandis* L.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, 37(84): 427-435.
- (80) Fermino–Júnior PCP, Raposo A, Scherwinski-Pereira JE (2011) Enraizamento ex vitro e aclimatização de plantas micropropagadas de *Tectona grandis*. *Floresta*, Curitiba, PR, 41(1):79-86.
- (81) Fontes MA, Otoni WC, Carolino SMB, Brommonschenkel SH, Fontes EPB, Fari M, Luoro RP (1999) Hyperhydricity in pepper plants regeneration in vitro: involvement of BiP (Binding Protein) and ultrastructural aspects. *Plant Cell Rep.* 19: 81–87.
- (82) Franck T, Crèvecoeur M, Wuest J, Greppin H, Gaspar Th (1998) Cytological comparison of leaves and stems of *Prunus avium* L. shoots cultured on a solid medium with agar or gelrite. *Biotech. Histochem.* 73: 32–43
- (83) Franck T, Gaspar T, Kevers C, Penel C, Dommès J, Hausman JF (2001) Are hyperhydric shoots of *Prunus avium* L. energy deficient?. *Plant Sci* 160: 1145–1151.
- (84) Franck T, Kevers C, Gaspar T (1995) Protective enzymatic systems against activated oxygen species compared in normal and vitrified shoots of *Prunus avium* L. raised in vitro. *Plant Growth Regul* 16: 253–256.
- (85) Franck T, Kevers C, Gaspar T, Dommès J, Deby C, Greimers S, Deby-Dupont G (2004) Hyperhydricity of *Prunus avium* shoots cultured on gelrite: a controlled stress response. *Plant Physiol and Bioch.* 42: 519–527

- (86) Gangopadhyay G, Das S, Mitra SK, Poddar R, Modak BK, Mukherjee KK (2002) Enhanced rate of multiplication and rooting through the use of coir in aseptic liquid culture media. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 68:301–310.
- (87) Gaspar T (1991) Vitrification in micropropagation, in: Y.P.S. Bajaj (Ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 17, High-Tech and Micropropagation I, Springer-Verlag, Berlin, pp117–126.
- (88) Gaspar T, Franck T, Bisbis B, Kevers C, Jouve L, Hausman JF, Dommes J (2002) Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulation* 37: 263–285.
- (89) Gaspar T, Kevers C, Bisbis B, Franck T, Crèvecoeur M, Greppin H, Dommes J (2000) Loss of plant organogenic totipotency in the course of *in vitro* neoplastic progression, *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 36:171–181.
- (90) Genkov T, Tsoneva P, Ivanova I (1997) Effect of cytokinins on photosynthetic pigments and chlorophyllase activity in *in vitro* cultures of axillary buds of *Dianthus caryophyllus* L. *J. Plant Growth Regul.* 163: 169 – 172.
- (91) George EF (1996) *Plant Propagation by Tissue Culture: Part 2 – In Practice. Exegetics*, Basingstoke. 640p.
- (92) Gion JM, Lalanne C, Le Provost G, Ferry-Dumazet H, Paiva J, Chaumeil P, Frigerio JM, Brach J, Barre A, Daruvar AD (2005) The proteome of maritime pine wood-forming tissue. *Proteomics* 5, 3731–3751.
- (93) Goltsev V, Genkov T, Lexa M, Ivanova I (2001) Effect of benzyladenine, 4-PU-30 and thidiazuron on millisecond delayed and prompt chlorophyll fluorescence of *Dianthus caryophyllus* L. axillary buds cultured *in vitro*. *Sci. Hortic.* 891: 41 – 54.
- (94) Gómez-Kosky R, 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.
- (95) Goswami H, Keng CL, Teo CKH (1999) *In vitro* shoot proliferation of *Tectona grandis* L. *J Biosci* 10:47–54.
- (96) Grace SC (2005) Phenolics antioxidants. In: *Antioxidants and reactive oxygen species in plants.* (Ed. Nicholas Smirnoff) Blackwell Publishing LTD, UK. p 141-168.

- (97) Gribble K, Tingle J, Sarafis V, Heaton, Holford P (1998) Position of water in vitrified plants visualised by NMR imaging, *Protoplasma* 201: 110–114.
- (98) Grigoriadou K, Vasilakakis M, Tzoulis T, Eleftheriou EP (2005). Experimental use of a novel temporary immersion system for liquid culture of olive microshoots. A.K. Hvoslef-Eide and W. Preil (eds.), *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*, 263–274.
- (99) Gupta P K, Nadgir AL, Mascarenhas AF, Jagannathan V (1980) Tissue culture of forest trees: clonal multiplication of *Tectona grandis* L. (teak) by tissue culture. *Plant Sci Lett.* 17: 259-268.
- (100) Gyves EM, Royani JI, Rugini E (2007) Efficient method of micropropagation and *in vitro* rooting of teak (*Tectona grandis* L.) focusing on large-scale industrial plantations. *Ann For Sci*64: 73–78.
- (101) Hazarika B (2003) Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current Science.* 85: 1704-1712.
- (102) Hazarika BN (2006) Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Sci Hortic* 108:105–120.
- (103) Ivanova M (2009) Regulation of hyperhydricity in *Aloe polyphylla* L. propagated *in vitro*. Dissertation, University of KwaZulu-Natal. p 240.
- (104) Ivanova M y Van Staden J (2008) Effect of ammonium ions and cytokinins on hyperhydricity and multiplication rate of *in vitro* regenerated shoots of *Aloe polyphylla*. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 92:227–231.
- (105) Ivanova M y Van Staden J (2011) Influence of gelling agent and cytokinins on the control of hyperhydricity in *Aloe polyphylla*. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 104:13–21.
- (106) Ivanova M, Novák O, Strnad M, Van Staden J Endogenous cytokinins in shoots of *Aloe polyphylla* cultured *in vitro* in relation to hyperhydricity, exogenous cytokinins and gelling agents. *Plant Growth Regul.* 50:219–230, 2006.
- (107) Jamet E, Canut H, Boudart G, Pont-Lezica RF (2006) Cell wall proteins: a new insight through proteomics. *Trends Plant Sci* 11:33–9.
- (108) Jeon MW, Ali MB, Hahn EJ, Paek KY (2005) Effect of photon flux density on the morphology, photosynthesis, and growth of a CAM orchid, *Doritaenopsis* during post-micropropagation acclimatization. *Plant Growth Reg* 45:139–147.

- (109) Jiménez E (2005). Mass propagation of tropical crops in temporary immersion systems. En: Hvoslef-Eide AK y Preil W (Springer, Dordrecht Eds.) Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation, pp. 197-211.
- (110) Jiménez E, Carlos R, Machado P, Pérez-Alonso N, Capote A, Pérez A, Eichler-Loebermann B (2011) In vitro propagation of the medicinal plant *Morinda royoc* L. *Biotecnología vegetal* 11(1): 43-47
- (111) Jiménez E, Pérez N, de Feria M, Barbón R, Capote A, Chávez M, Quiala E, Pérez J (1999) Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 59: 19-23.
- (112) Jiménez-Tello (2008) Propagación in vitro de *Tectona grandis* L. a partir de ápices de brotes axilares de plantas de origen epicórmico. Tesis de maestría. p 67.
- (113) Jo UA, Murthy HN, Hahn EJ, Paek KY (2008) Micropropagation of *Alocasia amazonica* using semisolid and liquid cultures. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 44: 26–32.
- (114) Jorge I, Navarro RM, Lenz C, Ariza D (2005) I. The holm oak leaf proteome: analytical and biological variability in the protein expression level assessed by 2-DE and protein identification tandem mass spectrometry de novo sequencing and sequence similarity searching *Proteomics* 5: 222-234.
- (115) Jorin J, Maldonado AM, Echevarría-Zomeño S, Valledor L, Castillejo MA, Curto M, Valero J, Sghaier B, Donoso G, Redondo I (2009) Plant proteomics update (2007–2008): Second-generation proteomic techniques, an appropriate experimental design, and data analysis to fulfill MIAPE standards, increase plant proteome coverage and expand biological knowledge. *Journal of proteomics* 72: 285-314.
- (116) Kadleček P, Tichà I, Haisel D, Cápková V, Schàfer C (2001) Importance of *in vitro* pretreatment for ex vitro acclimatization and growth. *Plant Sci* 161:6701–6955.
- (117) Kataeva NV, Alexandrova IG, Butenko RG, Dragavteeva EV(1991) Effect of applied and international hormones on vitrification and apical necrosis of different plants cultured *in vitro*. *Plant cell Tissue and Organ Culture* 27:149-154.
- (118) Kevers C y Gaspar T (1986) Vitrification of carnation in vitro: changes in water content, extracellular space, air volume, and ion levels. *Physiol. Vég.* 24: 647–653.

- (119) Kevers C, Coumans M, Coumans-Gilles MF, Gaspar T (1984) Physiological and biochemical events leading to vitrification of plants cultured in vitro. *Physiol Plant* 61: 69–74.
- (120) Kevers C, Franck T, Strasser R, Dommès J, Gaspar T (2004) Hyperhydricity of micropropagated shoots: a typically stress-induced change of physiological state. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 77:181–191.
- (121) Kevers C, Greimers R, Franck T, Bisbis B, Domme J, Gaspar T (1999) Flow cytometry estimation of nuclear size and ploidy level of habituated calli of sugar beet. *Biol. Plant.* 42: 321–332.
- (122) Khuri S, Bakker FT y Dunwell JM (2001) Phylogeny, function and evolution of the cupins, a structurally conserved, functionally diverse superfamily of proteins. *Mol Biol Evol* 18: 593-605.
- (123) Kidelman ADO, Cañal MJ, Centeno ML, Feito I, Fernández B (1997) Endogenous plant growth regulators in carnation tissue cultures under different conditions of ventilation. *Plant Growth Reg* 22:169–174.
- (124) Kim KY y Yi GS (2008) Sequential KNN imputation method v.101 Cram R project. <http://cran.r-project.org/web/packages/SeqKnn/index.html>.
- (125) Kim SH y Kim SK (2002) Effect of cytokinins on in vitro growth of Grapes (*Vitis* spp.). *Korean Journal Plant Biotechnology* 29: 87-91.
- (126) Kirca A y Arslan E (2008) Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *Int J Food Sci Technol* 43:2038–2046.
- (127) Kjellsen TD, Shiryayeva L, Schröder W, Strimbeck R (Proteomics of extreme freezing tolerance in Siberian spruce (*Picea obovata*). *Journal of Proteomics* 73: 965 – 975.
- (128) Kozai T y Smith MAL (1995) Environmental control in plant tissue culture. In: Aitken-Christie J, Kozai T, Smith MAL (eds) *Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture*. Dordrecht: Kluwer, p. 301–18.
- (129) Kozai T, Jeong R, Kubota C, Murai Y (1995) Effects of volume and initial strength of medium on the growth, photosynthesis and ion uptake of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlet in vitro. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 64: 63 – 71.
- (130) Kozai T, Kubota C (2005) Unit and terminology use for the studies of photoautotrophic micropropagation. En: *Photoautotrophic (sugar-free medium)*

micropropagation as a new propagation and transplant production system (Eds.) by T. Kozai, F. Afreen, SMA. Zobayed. pp. 6-17.

- (131) Krishnapillay B (2000) Silviculture and management of teak plantations, *Unasylya*, No. 201, Teak. *Int J Forestry Forest Ind (FAO)*, 51- 2000/2: 4-11.
- (132) Kriswhnapillay B (2001) Estrategias de ordenación y requisitos ecológicos para mejorar el crecimiento y la calidad del árbol de teca en plantaciones. *Unasylya* No. 201 Teca. 20p.
- (133) Kulaeva O N, Burkhanova EA, Karavaiko NN, Selivankina SY, Porfirova SA, Maslova GG, Zemlyachenko YU, Borner T (2002) Chloroplasts affect the leaf response to cytokinin. *J Plant Physiol* 15912: 1309 – 1316.
- (134) Kumar P, Kaur J, Singh P (2011) A liquid culture system for shoot proliferation and analysis of pharmaceutically active constituents of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 105:299–307.
- (135) Kwon HK, Yokoyama R, Nishitani K (2005) A proteomic approach to apoplastic proteins involved in cell wall regeneration in protoplasts of *Arabidopsis* suspension-cultured cells. *Plant Cell Physiol* 46: 843-857.
- (136) Lane BG (2000) Oxalate oxidase and differentiating surface structure in wheat: germins. *Biochem J* 49: 309-321.
- (137) Le Dily F, Huault C, Gaspar T, Billard JP (1993) Does altered nitrogen metabolism and H₂O₂ accumulation explain the vitrified status of the fully habituated callus of *Beta vulgaris* (L)? *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 35: 69–74.
- (138) Le Dily F, Huault C, Gaspar Th, Billard JP (1993) Does altered nitrogen metabolism and H₂O₂ accumulation explain the vitrified status of the fully habituated callus of *Beta vulgaris* (L)? *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 35: 69–74.
- (139) Letham DS, Palni MS (1983) The biosynthesis and metabolism of cytokinins. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 34, 163–197.
- (140) Li H, Goodwin P, Qingmei H, Huang L, Kang Z (2011) Microscopy and proteomic analysis of the non-host resistance of *Oryza sativa* to the wheat leaf rust fungus, *Puccinia triticina* f. sp. *Triticici*. *Plant Cell Rep* DOI 10.1007/s00299-011-1181-0.
- (141) Li-Hua Z, Xue-Yuan L, Welander M (2005) Optimization of growing conditions for the apple rootstock M26 grown in RITA containers using

- temporary immersion principle. In: A.K. Hvoslef-Eide and W. Preil (eds.), *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*, 253–261.
- (142) Lippert D, Chowrira S, Ralph SG, Zhuang J (2007) Conifer defence against insects: proteome analysis of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) bark induced by mechanical wounding or feeding by white pine weevils (*Pissodes strobe*). *Proteomics* 7: 248–70.
- (143) Lorenzo O y Solano R (2005) Señalización de ácido Jasmónico e interacciones con otras hormonas. *Biojournal Net.* 1: 1-16.
- (144) Louro RP, Dos Santos AV, Machado RD (1999) Ultrastructure of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla*. I. Shoots cultivated *in vitro* in multiplication and elongation-rooting media. *Int J Plant Sci* 160: 217–227.
- (145) Mahjoub A, Hernould M, Joubes J, Decendit A, Mars M, Barrieu F, Hamdi S, Delrot S (2009) Overexpression of a grapevine R2R3-MYB factor in tomato affects vegetative development, flower morphology and flavonoid and terpenoid metabolism. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 551–561.
- (146) Majada JP, Fal MA, Sánchez-Tamès R (1997) The effect of ventilation on proliferation and hyperhydricity of *Dianthus caryophyllus* L. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 33: 62–69.
- (147) Majada JP, Sierra MI, Sánchez-Tamès R (2001) Air exchange rate affects the *in vitro* developed leaf cuticle of carnation. *Sci Hortic* 87: 121–130.
- (148) Mathesius U, Keijzers G, Natera SHA, Djordjevic MA, Rolfe BG (2001) Establishment of a root proteome reference map for the model legume *Medicago truncatula* using the expressed sequence tag database for peptide mass fingerprinting. *Proteomics* 1, 1424–40.
- (149) McAlister B, Finnie J, Watt MP, Blakeway F (2005) Use of the Temporary Immersion Bioreactor System (RITA®) for the production of commercial *Eucalyptus* clones at Mondi Forests (SA). In: Hvoslef-Eide AK, Preil W(eds) *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*. Springer, Dordrecht. pp 425–442.
- (150) Menéndez-Yuffá A, Barry-Etienne D, Bertrand B, Georget F, Etienne H (2010) A comparative analysis of the development and quality of nursery plants derived from somatic embryogenesis and from seedlings for large-scale propagation of coffee (*Coffea arabica* L.) *Plant Cell Tiss Organ Cult* 102: 297–307.
- (151) Merkle S y Nairn J (2005) Hardwood tree biotechnology. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 41:602–619.

- (152) Miller R, Poulos TL (2005) Ascorbate peroxidase. In: Antioxidants and reactive oxygen species in plants. (Ed. Nicholas Smirnoff) Blackwell Publishing LTD, UK. p 87-100.
- (153) Miranda J. Williams R (2007) Developmental influence of in vitro light quality and carbon dioxide on photochemical efficiency of PS II of strawberry leaves (*Fragaria x ananassa*). Journal of Applied Horticulture. 9: 13-16.
- (154) Moncaleán P, Alonso P, Centeno ML, Cortizo M, Rodríguez A, Fernández B, Ordas RJ (2005) Organogenic responses of *Pinus pinea* cotyledons to hormonal treatments: BA metabolism and cytokinin content. Tree Physiology 25: 1-9.
- (155) Moncaleán P, Fal MA, Castañón S, Fernández B, Rodríguez A (2009) Relative water content, *in vitro* proliferation, and growth of *Actinidia deliciosa* plantlets are affected by benzyladenine. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 37:351–359.
- (156) Moncaleán P, Fernández B, Rodríguez A (2007) *Actinidia deliciosa* leaf stomatal characteristics in relation to benzyladenine incubation periods in micropropagated explants. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 35: 159- 169.
- (157) Monk LS, Fagerstedt KV, Crawford RMM (1989) Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. Physiologist Plant 76: 438–745.
- (158) Monteuis O, Bon MC, Goh DKS (1998) Teak propagation by in vitro culture. Bois et forest des tropiques 256:1–11.
- (159) Morini S, Melai M (2005) Net CO₂ exchange rate of *in vitro* plum cultures during growth evolution at different photosynthetic photon flux density. Hort. Sci. 105: 197-211.
- (160) MOWSE (Daresbury, UK) (<http://www.dl.ac.uk/SEQNET/mowse.html>)
- (161) Muccilli V, Licciardello C, Fontanini D, Russo MP, Cunsolo V, Saletti R, Recupero GR, Foti S (2009) Proteome analysis of *Citrus sinensis* L. (Osbeck) flesh at ripening time. Journal of proteomics 73, 134 –152.
- (162) Munne-Bosch S y Lalueza P (2007) Age-related changes in oxidative stress markers and abscisic acid levels in a drought-tolerant shrub, *Cistus clusii* grown under Mediterranean field conditions. Planta 225. 1039–1049.

- (163) Murashige T y Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473–497.
- (164) Murch SJ, Liu CZ, Romero RM, Romero M, Saxena PK (2004) In vitro culture and temporary immersion bioreactor production of *Crescentia cujete*. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 78: 63–68.
- (165) Murillo O y Badilla Y (2005) Propagación vegetativa de la Teca en Costa Rica. Cartago de Costa Rica. 12p.
- (166) Nagori R, Purohit SD (2004) *In vitro* planted regeneration in *Annona squamosa* L. through direct shoot bud differentiation on hypocotyls segments. *Sci. Hortic.* 991: 89–98.
- (167) NCBI (National Center of Biotechnology Information) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).
- (168) Ndimba BK, Thomas LA, Ngara R. (2010) Sorghum 2-Dimensional Proteome Profiles and Analysis of HSP70 Expression Under Salinity Stress. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 44: 768 - 775.
- (169) Nehra NS, Becwar MR, Rottmann WH, Pearson L, Chowdhury K, Chang SH, Dayton WH, Kodrzycki RJ, Zhang C, Gause KC, Parks DW y Hinchee MA (2005) Invited review: Forest biotechnology: innovative methods, emerging opportunities. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 41:701–717.
- (170) Ngara R, Ndimba BK (2011) Mapping and characterisation of the sorghum cell suspension culture secretome. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10 (2), pp. 253-266.
- (171) Nguyen Q y Kozai T (2001) Growth of in vitro banana (*Musa* spp.) shoots under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. *In Vitro Cell. Dev. Biol Plant* 37: 824-829.
- (172) Nilson SE; Assmann SM (2007) The control of transpiration. Insights from *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 143: 19-27.
- (173) Nobel PS (2009) *Plant Physiology* (fourth edition). Elsevier academic press, p 571.
- (174) Novo EU (2008) Lignificación en cultivos celulares de gimnospermas basales. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Departamento de Biología Celular e Molecular, Universidad A Coruña, p 222.

- (175) Novo UE, Gómez-Ros LV, Hernández JA, Pedreño MA, Cuello J, Ros BA (2009) Analysis of the soluble cell wall proteome of gymnosperms. *Journal of Plant Physiology* 166: 831-843.
- (176) Ochatt SJ, Muneaux E, Machado C, Jacas L, Pontécaille C (2002) The hyperhydricity of in vitro regenerants of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) is linked with an abnormal DNA content, *J. Plant Physiol.* 159:1021–1028.
- (177) Oliveira LM, Renato P, Santana JRF, Alves E, Cravo NR, Pereira FD (2008) Effect of cytokinins on in vitro development of autotrophism and acclimatization of *Annona glabra* L. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*. DOI 10.1007/s11627-008-9119-0.
- (178) Olmos E, Piqueras A, Martínez-Solano JR, Hellin E (1997) The subcellular localization of peroxidase and the implication of oxidative stress in hyperhydrated leaves of regenerated carnation plants, *Plant Sci.* 130: 97–105.
- (179) Olmos S, Luciani G, Galdeano E (2004) Micropropagación. En *Biología y Mejoramiento Vegetal*. Eds. INTA (Argentina): 163-172.
- (180) Ontología de Genes (OG) (<http://www.geneontology.org/>).
- (181) Orczyk W, Dmochowska-Boguta M, Czembor HJ, Nadolska-Orczyk A (2010) Spatiotemporal patterns of oxidative burst and micronecrosis in resistance of wheat to brown rust infection. *Plant Pathol* 59:567–575.
- (182) Palama TL, Menard P, Fock I, Choi YH, Bourdon E, Govinden-Soulange J, Bahut M, Payet B, Verpoorte R, Hippolyte K (2010) Shoot differentiation from protocorm callus cultures of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae): proteomic and metabolic responses at early stage. *BMC Plant Biology*. DOI: 10.1186/1471-2229-10-82
- (183) Palanisamy K, Gireesan K, Nagarajan V, Hegde M (2009) Selection and clonal multiplication of superior trees of teak (*Tectona grandis* L.) and preliminary evaluation of clones. *Journal of Tropical Forest Science* 21(2): 168–174.
- (184) Pandey R, Heidmann S, Lehner CF (2005) Cellular re-organization and dynamics of progression through mitosis. *J. Cell Sci.* 118(Pt 4): 733-742.
- (185) Park SW, Jeon JH, Kim HS, Park YM, Aswath C, Joung H (2004) Effect of sealed and vented gaseous microenvironments on hyperhydricity of potato shoots in vitro. *Sci. Hort.* 99:199–205.

- (186) Passardi F, Cosio C, Penel C and Dunand C (2005) Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports* 24 (5): 255-265.
- (187) Pérez-Alonso N, Wilken D, Gerth A, Annett J, Nitzsche HM, Kerns G, Capote-Pérez A, Jiménez E (2009) Cardiogenic glycosides from biomass of *Digitalis purpurea* L. cultured in temporary immersion system. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 99:151–156.
- (188) Perry PL, Ueno K, Shetty K (1999) Reversion to hyperhydration by addition of antibiotics to remove pseudomonas in unhyperhydrated oregano tissue culture. *Process Biochem* 34:717–723.
- (189) Pesquet E, Ranocha P, Legay S, Digonnet D, Barbier A, Pichon M, Goffner D (2005) Novel Markers of Xylogenesis in *Zinnia* Are Differentially Regulated by Auxin and Cytokinin. *Plant Physiology* vol. 139 no. 4: 1821-1839
- (190) Picoli EAT, Otoni WC, Figueira ML, Carolino SMB, Almeida RS, Silva EAM, Carvalho CR, Fontes EPB (2001) Hyperhydricity in in vitro eggplant regenerated shoots: structural characteristics and involvement of BiP (Binding Protein). *Plant Sci* 160: 857–868.
- (191) Plomion C, Lalanne C, Claverol S, Meddour H, Kohler A, Bogeat, Triboulot MB, Barre A, Le PG, Dumazet H, Jacob D, Bastien C, Dreyer E, de Antoine D, Guehl JM, Schmitter JM, Martin F, Bonneau M (2006) Mapping the proteome of poplar and application to the discovery of drought stress-responsive proteins. *Proteomics* 6:6509–6527.
- (192) Porra RJ (2002) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research* 73: 149–156.
- (193) Pospíšilová J, Catsky J, Sesták Z (1997) Photosynthesis in plant cultivated in vitro. In: Passaraki, M. *Handbook of photosynthesis*. Kluwer Academic publishers. Netherland. (ed.). pp. 525-540.
- (194) Pospíšilová J, Synkova D, Haisel D, Semoradova S (2007) Acclimatization of plantlets to ex vitro conditions: Effect of air humidity, irradiance, CO₂ concentration and abscisic acid (a review). *Acta Hort.* 748: 29-38.
- (195) Pospíšilová J, Synkova H, Haisel D, Batkova P (2009) Effect of abscisic acid in photosynthetic parameters during ex vitro transfer of micropropagated tobacco plantlets. *Biologia Plantarum* 53(1):11-20.

- (196) Pospíšilová J, Tichà I, Kadlec P, Haisel D, Plzaková S (1999) Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions. *Biol Plant* 42: 481–497.
- (197) Pospíšilová J, Wilhelmova N, Synkova H, Càtsky J, Krebs D, Tichà I, Hanackova B, Snopek J (1998). Acclimation of tobacco plantlets to ex vitro conditions as affected by application of abscisic acid. *Journal of Experimental Botany* 49: 863-869.
- (198) Preil W (2005) General introduction: a personal reflection on the use of liquid media for in vitro culture. In: Hvoslef-Eide AK, Preil W (eds) *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*. Springer, Dordrecht, pp 1–18.
- (199) Programa informático MASCOT
(<http://www.matrixscience.com/home.html>).
- (200) Quiala E, Barbón R, Jiménez E, de Feria M, Chávez M, Capote A, Pérez N (2006) Biomass production of *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, a medicinal plant, in temporary immersion system. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 42: 298–300.
- (201) Quintanilla K (2007) Establecimiento in vitro de Loroco (*Fernaldia pandurata* W) *Revista Agronomía Mesoamericana* 18: 75-84.
- (202) Quiroga M, Guerrero C, Botella MA, Barceló A, Amaya I, Medina MI, Alonso FJ, Milrad de Forchetti S, Tigier H, Valpuesta V (2000) A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. *Plant Physiol* 122: 1119-1127.
- (203) Read P (2007) Micropropagation: Past, present and future. *Acta Hort.* 748: 17-28.
- (204) Renaut J, Hoffmann L, Hausman JF (2005) Biochemical and physiological mechanisms related to cold acclimation and enhanced freezing tolerance in poplar plantlets. *Physiol Plant* 125:82–94.
- (205) Renaut J, Lutts S, Hoffmann L, Hausman JF (2004) Responses of poplar to chilling temperatures: proteomic and physiological aspects. *Plant Biol* (Stuttgart, Germany) 6:81–90.
- (206) Reyes-Díaz M, Ivanov AG, Huner NPA, Alberdi M, Corcuera LJ, Bravo L (2009) Thermal energy dissipation and its components in two developmental stages of a shade-tolerant species, *Nothofagus nitida*, and a shade-intolerant species, *Nothofagus dombeyi*. *Tree Physiology* 29, 651–662.

- (207) Reyes-Díaz M, Alberdi M, Piper F, Bravo LA, Corcuera LJ (2005) Low temperature responses of *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Blume and *Nothofagus nitida* (Phil.) Krasser, two evergreen species from south central Chile. *Tree Physiol.* 25:1389–1398.
- (208) Ríos D, Avilés F, Sánchez-Olante M, Escobar R, Pereira G (2005) Variación de la tasa de enraizamiento asociada al número de subcultivo y diámetro de microtallos de castaño (*Castanea sativa* Mill.). *Agricultura Técnica* 65(3): 258-264.
- (209) Robinson DG, Ehlers U, Herken R, Herrmann BH, Mayer F, Schuermann FW (1987) Methods for SEM. In: MuEhlethaler K (ed) *Methods of Preparation for Electron Microscopy*. Springer, Berlin, pp 145–172.
- (210) Roels S, Noceda C, Escalona M, Sandoval J, Canal MJ, Rodríguez R, Debergh P (2006) The effect of headspace renewal in a temporary immersion bioreactor on plantain (*Musa AAB*) shoot proliferation and quality. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 84: 155–163.
- (211) Ros-Barceló BA, Gómez-Ros LV, Ferrer MA, Hernández JA (2006) The apoplastic antioxidant enzymatic system in the wood forming tissues of trees. *Trees Struct Funct* 20:145–156.
- (212) Rouhier N, Jacquot J (2002) Plant peroxiredoxins: alternative hydroperoxide scavenging enzymes. *Photosynthesis Research.* 74: 259-268.
- (213) Saher S, Piqueras A, Hellin E, Olmos E (2004) Hyperhydricity in micropropagated carnation shoots: the role of oxidative stress. *Physiologia Plantarum* 20: 152–161.
- (214) Sankar-Thomas YD y Lieberei R (2011) Camptothecin accumulation in various organ cultures of *Camptotheca acuminata* Decne grown in different culture systems. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 106: 445–454.
- (215) Santamaría E, Toorop P, Rodríguez R, Cañal MJ (2010) Dormant and non-dormant *Castanea sativa* Mill. buds require different polyvinylpyrrolidone concentrations for optimal RNA isolation. *Plant Sci* 178: 55–60.
- (216) Santamaría JM, Davies WJ, Atkinson CJ (1993) Stomata of micropropagated *Delphinium* plants respond to ABA, CO₂, light and water potential, but fail to close fully. *Journal of experimental Botany* 44: 99-107.
- (217) Santoni V, Rouquié V, Doumas P, Mansion M, Boutry M, Degand M, Dupree P, Packman L, Sherrier J (1997) Use of a proteome strategy for

- tagging proteins present at the plasma membrane. *The Plant Journal* 16(5): 633–641.
- (218) Savangikar VA, Savangikar C, Daga RS, Pathak S (2005) Potentials for cost reduction in a new model of commercial micropropagation. A.K. Hvoslef-Eide and W. Preil (Eds.), *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*, Springer. pp. 403–414.
- (219) Schillmiller AL y Howe GA (2005) Systemic signaling in the wound response. *Curr Opin Plant Biol* 8: 369–377.
- (220) Schlesier B, Berna A, Bernier F y Mock HP (2004) Proteome analysis differentiates between two highly homologous germin-like proteins in *Arabidopsis thaliana* ecotypes Col-0 and Ws-2. *Phytochemistry* 65: 1565-1574
- (221) Schweizer P, Christoffel A, Dudler R (1999) Transient expression of members of the germin-like gene family in epidermal cells of wheat confers disease resistant. *Plant J* 20: 541-552.
- (222) Segarra CI, Casalongué CA, Pinedo ML, Ronchi VP y Conde RD (2003) A germin-like protein of wheat leaf apoplast inhibits serine proteases. *J Exp Bot* 54: 1335-1341.
- (223) Sekimoto YS, Taki N, Obayashi T, Aono M, Matsumoto F (2005) Coordinated activation of metabolic pathways for antioxidants and defence compounds by jasmonates and their roles in stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*. 44: 653–68.
- (224) Seth SK y Kaul ON (1978) *Tropical forest ecosystems of India: the Teak forest*. Paris (France) UNESCO, pp. 628-640.
- (225) Sghaier-Hammami B, Valledor L, Drira N, Jorin-Novo JV (2009) Proteomic analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) zygotic embryos development and germination. *Proteomics* 9: 2543-2554
- (226) Sharwood RE y Whitney SM (2010) Engineering the Sunflower Rubisco Subunits into Tobacco Chloroplasts: New Considerations. In: Constantin A. Rebeiz et al. (eds.), *The Chloroplast: Basics and Applications*, Springer, Science+Business Media B.V, pp. 285–306.
- (227) Shevchenko V (2001) Expanding the organismal scope of proteomics: Cross-species protein identification by mass spectrometry and its implications. *Proteomics* 3 (1): 19–28.

- (228) Shu-Han Y y Der-Ming Y (2008) In vitro leaf anatomy, ex vitro photosynthetic behaviours and growth of *Calathea orbifolia* (Linden) Kennedy plants obtained from semisolid medium and temporary immersion systems. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 93: 201-207.
- (229) Spanos GA y Wrolstad RE (1990) Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson Seedless grape juice. *J Agric Food Chem* 38: 1565–1571.
- (230) Sreedhar RV, Venkatachalam, Neelwarne B (2009) Hyperhydricity-Related Morphologic and Biochemical Changes in Vanilla (*Vanilla planifolia* L.). *J Plant Growth Regul* 28: 46–57.
- (231) Suhita D, Agepati S, Raghavendra J, Kwak M, Vavasseur A (2004) Cytoplasmic Alkalization Precedes Reactive Oxygen Species Production during Methyl Jasmonate- and Abscisic Acid-Induced Stomatal Closure1 *Plant Physiology* 134 (4):1536-1545
- (232) Takayama, S. 2002. Practical aspects of Bioreactor application in mass propagation. 1st Int. Symp. —Liquid Systems for in vitro Mass Propagation of Plant. pp. 60-62.
- (233) Taylor IB, Sonneveld T, Bugg TDH, Thompson AJ (2005). Regulation and manipulation of the biosynthesis of ABA including the supply of xanthophyll precursors. *J. Plant Growth Regul* 24, 253–273.
- (234) Teisson C y Alvard D (1995) A new concept of plant in vitro cultivation liquid medium: temporary immersion. In: Terzi M. Celia R. Falavigna A. (Kluwer, Dordrecht eds) *Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology*: 105–110.
- (235) Tichà I, Radochovaà B, Kadlecèk P (1999) Stomatal morphology during acclimatization of tobacco plantlets to ex vitro conditions. *Biol Plant* 42: 469–474.
- (236) Timperio MA, Egidi MG, Zolla L (2008) Proteomics applied on plant abiotic stresses: Role of heat shock proteins (HSP) *Journal of Proteomics* 71: 391– 411.
- (237) Tiwari SK, Tiwari KP, Siril EA (2002) An improved micropropagation protocol for teak. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 71: 1–6.
- (238) Toro B (2003) Protocolo de micropropagacion para cv. Carmenerè. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 77: 7–12.

- (239) Tossi V (2012) ABA says NO to UV-B: a universal response?. Trends in Plant Science, 17 (9): 510-517.
- (240) Tsay HS, Lee CY, Agrawal DC, Basker (2006) Influence of ventilation closure, gelling agent and explant type on shoot bud proliferation and hyperhydricity in *Scrophularia yoshimurae* – a medicinal plant. In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant 42:445–449.
- (241) Ubeda-Tomas S, Edvardsson E, Eland C, Kumar Singh S, Zadik D, Aspeborg H, Gorzsàs A, Teeri TT, Sundberg B, Persson P, Bennett M y Marchant A (2007) Genomic-assisted identification of genes involved in secondary growth in *Arabidopsis* utilising transcript profiling of poplar wood-forming tissues. *Physiol Plantarum* 129: 415-428.
- (242) Valledor L, Castillejo MA, Lenz C, Rodríguez R, Canal MJ, Jorriñ J (2008) Proteomic analysis of *Pinus radiata* needles: 2-DE map and protein identification by LC/MS/MS and substitution tolerant database searching. *J Proteome Res.* 7: 2616–2631.
- (243) Valledor L, Meijón M, Hasbún R, Cañal MJ, Rodríguez R (2010) Variations in DNA methylation, acetylated histone H4, and methylated histone H3 during *Pinus radiata* needle maturation in relation to the loss of in vitro organogenic capability. *J. Plant Physiol* 167: 351–357.
- (244) Vallelian-Bindschedler L, Mosinger E, Métraux JP y Schweizer P (1998) Structure, expression and localization of a germin-like protein in barley (*Hordeum vulgare* L.) that is insolubilized in stressed leaves. *Plant Mol Biol* 37: 297-308.
- (245) Van Dam NM y Bezemer TM (2006) Chemical communications between roots and shoots. In: M. Dicke and taken (Eds) *Chemical Ecology: from gene to ecosystem*: 127-140.
- (246) Van Huystee RS (1987) Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 38: 205–219.
- (247) Van Staden J, Fennell CW, Taylor NJ (2004) *Plant Stress In Vitro: The Role of Phytohormones*. ISHS Acta Horticulturae 725: V International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding. Disponible en: www.actahort.org.
- (248) Vasil, I (1994) Automation in plant propagation. *Plant Cell Tiss and Organ Cult* 39(2): 105-108.
- (249) Vásquez E y Torres S (2006) *Fisiología Vegetal*. 3era Ed. Felix Varela. La Habana (Cuba). 451p.

- (250) Vidal N, Ballester MC, Vietez C, Kevers M, Gaspar TH (1994) Biochemical characteristic of chestnut shoots related to in vitro multiplication and rooting capacities. *Adv. Horticultural Science* 8: 19-24.
- (251) Vilches J (2001) Embriogénesis somatic en guayaba (*Psidium guajava* L.). Tesis de Maestría. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba.
- (252) Wang X, Li X, Li Y (2007) A modified Coomassie brilliant blue staining method at nanogram sensitivity compatible with proteomic analysis. *Biotechnol Lett* 29:1599–1603
- (253) Watson BS, Asirvatham VS, Wang L, Sumner LW (2003) Mapping the proteome of barrel medic (*Medicago truncatula*). *Plant Physiol.* 131: 1104–1123.
- (254) Weaver P (1993) *Tectona grandis* L. Verbenaceae. Institute of Tropical Forestry. Southern Forest Experiment Station. Rio Piedras (Puerto Rico). 18p.
- (255) Weeda SM, Mohan Kumar GN, Knowles R (2010) Correlative changes in proteases and protease inhibitors during mobilisation of protein from potato (*Solanum tuberosum* L.) seed tubers. *Functional Plant Biology*, 37, 32–42.
- (256) Welander M, Li XY, Zhu LH (2001) Improved micropropagation of apple rootstocks by temporary immersion system. Cost 843, WG2: Quality enhancement of plant production through tissue culture. 2nd Meeting Thessaloniki, 22-25 September, Extended Abstracts: (pp. 7-8).
- (257) Werner T, Motyka V, Laucou V, Smets R, Van Onckelen H, Schumling T (2003) Cytokinin in deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell* 15: 2532-2550.
- (258) White KJ (1991) Teak some aspects of research and development RAPA Bangkok.
- (259) Woodall AA, Lee SW, Weesie RJ, Jackson MJ, Britton G. (1997). Oxidation of carotenoids by free radicals: Relationship between structure and reactivity. *Biochem Biophys Acta* 1336: 33–42.
- (260) Yan H, Liang C, Li Y (2011) Axillary shoot proliferation and tuberization of *Discorea forii* Prain et Burk. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 104: 93–198.

- (261) Yang X, Lee S, So JH, Dharmasiri S, Dharmasiri N, Ge L, Jensen C, Hangarter R, Hobbie L, Estelle M (2004) The IAA1 protein is encoded by AXR5 and is a substrate of SCF (TIR1). *Plant J.* 40:772–782.
- (262) Yasodha R, Sumathi R, Gurumurthi K (2005) Improved micropropagation methods for teak. *J Trop For Sci* 17:63–75.
- (263) Zhang SQ y Outlaw WH (2001) The guard-cell apoplast as a site of abscisic acid accumulation in *Vicia faba* L. *Plant Cell Environ.* 24: 347-355.
- (264) Zhu JK (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol* 53: 247-273.
- (265) Zhu LH, Xue-Yuan Li, Welander M (2005) Optimization of growing conditions for the apple rootstock M26 grown in RITA containers using temporary immersion principle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 81: 313–318.
- (266) Ziv M (1991) Vitrification: morphological and physiological disorders of in vitro plants. In: Debergh PC, Zimmerman RH (eds) *Micropropagation: technology and application*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 45–69.
- (267) Ziv M (1995) In vitro aclimatización. En: Aitken-Christie., J. Kozait., T. Smith., M. A. (Eds). *Automation and environmental control in Plant Tissue Culture*. Kluwer Academic Publishers, pp. 405- 438.
- (268) Ziv M (2001) Vitrification. In: Debergh PC, Zimmerman RH (eds) *Micropropagation technology and application*. Kluwer, Dordrecht, pp 45–69.
- (269) Ziv M (2002) Simple bioreactor for mass propagations of plants. 1 st. Int. Symp. —Liquid Systems for in vitro Mass Propagation of Plant: 13-14.
- (270) Ziv M (2005) Simple bioreactors for mass propagation of plants. In: Hvoslef-Eide AK, Preil W (Springer, Dordrecht eds) *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*, p 588.
- (271) Ziv M y Ariel M (1992) Vitrification in relation to stomatal deformation and malfunction in carnation leaves in vitro. In: Lumsden PJ, Nicholas JR, Davies WJ. (Eds): *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture*: 143-154. Kluwer Academic Publishers.
- (272) Ziv M, Schawarts A, Fleminger D (1987) Malfunctioning stomata in vitreous leaves of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) plants propagated in vitro; implications for hardening. *Plant Science* 52: 127-134.

(273) Zobayed SMA (2005) Ventilation in micropropagation. In: Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new propagation and transplant production system (Springer Eds.) by T. Kozai, F. Afreen, SMA. Zobayed: 143-182.