



Evaluación del comportamiento *in vitro* de ápices de plátano *Musa* AAB cv. “Hartón” y “Hartón Doble Tallo”

Juan Pablo Uzcátegui*¹✉, Yvo Hernández^{1 2}, Dagmary Osorio¹ y Miledy Rivas^{1,2}

¹ Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum”. ² Laboratorio de Biotecnología GIBAS. Santa Bárbara de Zulia-Venezuela.

Recibido. 12 mayo 2009/Aceptado 20 junio 2009

RESUMEN

Con el propósito de evaluar el comportamiento *in vitro* de ápices de plátano *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón “Doble Tallo”; se colectaron 20 cormos de ambos clones para su iniciación en cultivo *in vitro* en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum”. El medio de cultivo empleado es el Murashige y Skoog (1962) suplementado con vitaminas de Morel (100 ml/l); como reguladores hormonales se utilizó N6-bencilademinopurina para la fase de establecimiento y ácido indolbutírico (1.30 mg/l) en la fase de enraizamiento. Los ápices de *Musa* AAB cv. Hartón manifestaron una respuesta fisiológica positiva al establecimiento, con un promedio de cuatro rebrotes por explante, una oxidación fenólica en el grado de moderadamente oxidado y un porcentaje de muerte por necrosis del 25%, obteniendo plántulas aptas para ser aclimatadas a los seis meses de iniciado el ensayo. Por su parte el plátano Hartón “Doble Tallo”, obtuvo una respuesta tardía en comparación al *Musa* AAB cv. Hartón, observándose unas estructuras parecidas a callos; una oxidación mas pronunciada (65%) de explantes necróticos. Al finalizar el ensayo, 36 plántulas fueron aclimatadas, 27 en estado de brotación y 19 explantes en enraizamiento para *Musa* AAB cv. Hartón, a diferencia del Hartón “Doble Tallo” los cuales formaron 5 callos que aún permanecen en brotación.

Palabras clave: cultivo de tejido, Hartón, *in vitro*, *Musa*, plátano.

ABSTRACT

Evaluation of plantains apexes of *Musa* AAB cv. False Horn and False Horn “Double Bunch” *in vitro* behaviour

In order to evaluate *in vitro* behaviour of *Musa* AAB and False Horn “Double Bunch” apexes, 20 corms of both clones were collected to initiate *in vitro* culture at the Biotechnology Laboratory of the Universidad Nacional Experimental Sur del Lago *Jesús María Semprum* UNESUR. The chosen culture medium was the Murashige and Skoog (1962) supplemented with Morel Vitamins, and N6-bencylademinopurine (5 mg/l) and Indolbutiric acid (1.30 mg/l) were used as hormone regulators for culture establishing and rooting respectively. The *Musa* AAB apex showed a positive physiological response to the establishing of the culture, with an average of 4 sprouts for explants, a moderate phenol oxidation and 25% necrosis. Plantules ready for acclimating 6 month after initiating the essay were obtained in this way. In the other hand, *Musa* AA plantain had a late response compared to the *Musa* AAB cv. Hartón, and callus like structures were observed, a much more pronounced oxidation and 65% necrotic explantes. By the end of the assay 36 plantules were acclimated, 27 were in sprout estate and 19 explante were rooted for *Musa*, which differs from False Horn “Double Bunch” which only produced 5 callus, still in sprout

Keywords: Tissue culture, False horne, *in vitro*, *Musa*, plantain

INTRODUCCIÓN

Los plátanos y bananos representan gran parte de la alimentación diaria para más de 400 millones de personas en 100 países del trópico y subtropico. La utilización del plátano como alimento ha venido incrementando su valor económico, lo que implica la necesidad de mejorar sus rendimientos, la calidad para fomentar su rápida multiplicación mediante el desarrollo y transformación de tecnologías (Colmenares y Giménez, 2003). Específicamente en Venezuela, la importancia de las musáceas se refleja en las estimaciones del

consumo per cápita, en el caso del cambur es de unos 33 Kg mientras que en el plátano es de unos 20 Kg, aunado al hecho de un mercado tradicionalismo en su consumo (Trujillo, 2005). Sin embargo, todo esto tiene como marco de desarrollo un marco de desarrollo un referencial tecnologico, tradicional o tradicional mejorado, con bajos y medianos rendimientos, con elevados niveles de pérdidas por deficiente manejo, tanto en cosecha como en post-cosecha, apuntando a la necesidad de programas de investigación donde el principal objetivo, sea la competitividad de las musáceas frente a otros

mercados (Del Valle, 2002). El avance acelerado, de las nuevas tendencias tecnológicas, ha aumentado las preguntas y complicado las respuestas, trayendo consigo la gran responsabilidad de adquirir los conocimientos necesarios, para establecer conclusiones razonables, adecuadas al momento y lugar donde se den. Como consecuencia, la agricultura ha querido lograr los mayores beneficios, específicamente en lo relacionado con las musáceas, moviéndose el interés de que estas tecnologías sean aplicadas para lograr el aprovechamiento y la simplificación del entendimiento de los distintos factores que confluyen dentro de la producción de este rubro (Del Valle, 2002). La actividad agraria a lo largo de la historia ha tenido como papel fundamental el proporcionar alimentos a la humanidad. A pesar de las predicciones pesimistas, en la segunda mitad del Siglo XX, se ha suscitado una gran revolución en la agricultura que ha tenido un impacto muy positivo en la producción de alimentos (Leyva y Paz-Ares, 2000).

La aplicación de la biotecnología ha permitido la elaboración de nuevos fármacos, productos y sistemas de análisis más precisos así como eficientes. El uso de esta ciencia práctica, con su amplia capacidad de aplicación en áreas diversas ha suscitado un creciente interés en aspectos sociales, legales y éticos asociados a su uso (Pérez, 2000). La biotecnología agrícola es un tema de gran actualidad a nivel mundial que ha impulsado muchas controversias y debates alrededor de su utilidad e impacto al ambiente y a la salud humana. Estas técnicas han servido de herramientas para resolver interrogantes en el campo productivo de la investigación básica tales como morfogénesis, bioquímica, fisiología; y aplicada en el caso de propagación, mejoramiento genético, entre otras (Pérez, 2000).

Los cultivares de plátano generalmente son triploides, estériles y con frutos partenocárpicos, por lo que el mejoramiento convencional a través de cruzamiento es extremadamente difícil (Vásquez *et al.*, 1990). Este hecho impide en gran medida la elaboración de los programas de hibridación exitosos (Tenkouano y col., 2004). Por esta razón la técnica de cultivo de tejido *in vitro* permite realizar investigaciones en el mejoramiento genético de Musas de interés comercial.

Los orígenes del cultivo de tejidos se remontan a 1902 con los intentos realizados por Haberlandt de cultivar células aisladas de plantas, quien postuló el principio de la totipotencia celular, que es la base teórica sobre la que se

sustentan todas las técnicas del cultivo *in vitro*. El cultivo de tejidos, puede definirse como un conjunto de técnicas que permiten el cultivo en condiciones asépticas de órganos, tejidos, células y protoplastos empleando medios nutritivos artificiales (Jiménez, 1998). La micropropagación o propagación clonal, es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *in vitro*, a través de la micropropagación, a partir de un fragmento llamado *explante* de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. El explante más usado para los procesos de propagación *in vitro* son las yemas apicales vegetativas de las plantas (Castillo, 2004).

La embriogénesis somática como método de regeneración, asociada con las técnicas de manipulación genética son importantes herramientas para la producción de nuevos cultivares de plantas transformadas, que sean resistentes o tolerantes a las enfermedades, el cual depende de un protocolo de transformación y regeneración rápida, eficaz y fácilmente aplicable. Las suspensiones celulares embriogénicas también son el material ideal para la producción de protoplastos (Panis y col., 1993) y la inducción de mutaciones (Roux, 2004). La propagación de material vegetal libre de microorganismos es una de las premisas fundamentales para la comercialización de plantas *in vitro*, el intercambio de germoplasma o el mejoramiento genético (Pérez, 2006).

Finalmente, el uso de las técnicas de cultivo de tejidos en la micropropagación clonal *in vitro* de musáceas, ha permitido la producción masiva de plantas sanas, libres de hongos, nematodos, bacterias y además la multiplicación rápida de genotipo de gran importancia económica en áreas relativamente pequeñas, permitiendo tener poblaciones uniformes con alto rendimiento por hectárea (Canchignia y Ramos, 2004). De tal forma, en este trabajo se evaluó en primera instancia el comportamiento *in vitro* de ápices fisiológicamente funcionales de plátano Hartón normal y doble tallo, utilizando las técnicas que ofrece la biotecnología actual, de tal manera que exista una primera experiencia de laboratorio que sirva de base a una serie de evaluaciones específicas, hasta poder llegar a poner en producción estas plantas de las cuales no se sabe aún como pueden comportarse en campo en altas densidades y si esta característica productiva resultase homogénea en toda la plantación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado, fue cormos de plátano *Musa* (AAB) Hartón y Hartón "Doble Tallo"; estos cormos se caracterizaron por tener aproximadamente 40 cm de longitud y 500 grs. de peso.

En el establecimiento de la fase *in vitro* se utilizaron recipientes de vidrio de 90 ml aproximadamente, papel bond, marcador, pinza, bisturí, beakers, elenmeyer, tubos de ensayo, goteros, mechero, soluciones buffer, cámara de flujo laminar, autoclave, refrigerador, pH-metro, balanza analítica, estufa de secado, planchas de agitación, papel aluminio, papel grap, material de vidrio y plástico, alcohol (70° y 90°),

cloro comercial, sales minerales, vitaminas y hormonas para medio, entre otros insumos (tablas 1 y 2)

El establecimiento *in vitro* de los explantes se realizó de acuerdo al protocolo establecido por Colmenares y Giménez (2003). En principio se utilizaron 18 cormos viables, los cuales fueron lavados y reducidos hasta una longitud aproximada de 3 cm en su base y 5 cm. de altura, luego se colocaron los cormos en una solución de agua y jabón azul por 5 minutos, enseguida se enjuagaron con agua destilada e inmediatamente introducidos en una solución de hipoclorito de sodio al 20% durante 20 minutos. Seguidamente en una

cámara de flujo laminar horizontal se colocaron los explantes en recipientes con 400 ml de agua destilada aproximadamente. Se repitió el lavado 3 veces, e introducidos en solución antioxidante (ácido ascórbico 10 mg.l⁻¹ y cisteína 60 mg.l⁻¹). Luego, los explantes fueron reducidos una vez más hasta 1,5 cm en la base y 3 cm de altura para transferirlos a 10 ml de medio de iniciación compuesto por sacarosa, vitaminas de Morel y Wetmore (1951), suplementado con

sales de Murashige y Skoog (1962) e igualmente con una porción de bencilaminopurina como regulador del crecimiento durante el inicio del establecimiento *in vitro*, luego se transfirieron a un medio de enraizamiento, el cual se realizó utilizando los mismos principios prácticos a diferencia que la bencilaminopurina se sustituyó por ácido indolbutírico que estimula el enraizamiento.

Tabla 1. Componentes y cantidad de los medios MIB y ME de inducción de brotes y enraizamiento.

Medio de inducción de brotes (MIB)		Medio de inducción para enraizamiento (ME)	
Componentes	Cantidad por litro.	Componentes	Cantidad por litro
MS stock 10X	100 ml	MS stock 10X	100 ml
Vitaminas de Morel 10X	100 ml	Vitaminas de Morel 10X	100 ml
Cisteína	60 mg	Cisteína	60 mg
Ácido ascórbico	100 mg	Ácido ascórbico	100 mg
Mio-inositol	100 mg	Mio-inositol	100 mg
Sacarosa	30 g	Sacarosa	30 g
Benciladenina	5 mg	IAB	1.30 mg
Agar	8 o 3 g	Agar	8 o 3 g

Procedimiento:

Agregar en un vaso precipitado todos los componentes, excepto el agar. Añadir agua destilada. Agitar hasta disolver todo. Enraizar al volumen deseado con agua destilada en un cilindro graduado. Ajustar el pH a 5.80 con NaOH 1M y HCL 1N mientras se agita en un vaso de precipitado. Agregar la preparación en el vaso de precipitado. Agregar el agar. Agitar. Calentar hasta disolver el agar completamente. Dispensar el medio en frascos de vidrio (15 ml/frasco). Tapar los recipientes. Autoclavar los recipientes a temperatura

ambiente, hasta que el medio se solidifique. Refrigerar los recipientes con medio a 4 °C (si no se van a usar inmediatamente). Cada solución de varios componentes debe ser preparada diluyendo cada sustancia por separado previo a unirlos y luego se afora al volumen final.

La solución F debe ser preparada diluyendo ambos componentes por separados en unos 400 ml y calentándolos, se les deja enfriar a temperatura ambiente para unirlos y aforar al volumen final.

Tabla 2. Soluciones Stocks del Medio (Murashige y Skoog, 1962)

Símbolo de la solución.	Constituyentes.	[] de la solución Stock (g/L).	Volumen a usar (ml/L)	[] de la sustancia en el medio (mg/L).
A	NH ₄ NO ₃	82.5	20	1650
B	KNO ₃	95	20	1900
C	H ₃ BO ₃	1.24		6.2
	KH ₂ PO ₄	34		170
	KI	0.166	5	0.83
D	Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0.05		0.25
	CoCl ₂ •6H ₂ O	0.005		0.025
	CaCl ₂ •2H ₂ O			
E	MgSO ₄ •7H ₂ O	74•		370
	MnSO ₄ •4H ₂ O	4.46	5	22.3
	ZnSO ₄ •7H ₂ O	1.72•		8.6
	CuSO ₄ •5H ₂ O	0.005		0.025
F	Na ₂ -EDTA	3.72		37.2
	FeSO ₄ •7H ₂ O	2.78	10	27.8
		Mio-inositol		100mg/L
		Tiamina-HCl		0,4mg/L

Procedimiento

Agregar en un cilindro graduado todas las soluciones en el mismo orden de la tabla. Enrasar con agua destilada al volumen deseado en un cilindro graduado.

Agitar bien. Refrigerar la solución a 4 °C en un frasco ámbar limpio

Tabla 3. MS Stock 10X

Componentes	ml/L
Solución A	200
Solución B	200
Solución C	50
Solución D	50
Solución E	50
Solución F	100

RESULTADOS Y DISCUSIÓN**Establecimiento *in vitro* de explantes de *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón Doble Tallo”**

La primera fase corresponde a la iniciación, donde los explantes de ambos clones de *Musa*, se someten a condiciones controladas *in vitro*, éstos presentaron un engrosamiento prudente a consecuencia de la absorción de los diferentes componentes del medio de inducción de brotes (Tabla 2). Con respecto a la contaminación ó la presencia de agentes contaminantes resultó el 25% para los explantes de *Musa* AAB cv. Hartón, y del 40% para el Hartón “Doble Tallo” que

se vieron afectados por dicha variable (tabla 4). Descartados los medios y explantes contaminados, todos los que se encontraban en buenas condiciones, se cambiaron de medio donde permanecieron por 30 días, observándose un engrosamiento en el tejido meristemático con oxidación prudencial en la zona de reserva. El resto del explante mantenía coloración verde con aumento de tamaño y masa vegetativa.

Tabla 4. Porcentaje de contaminación de explantes de Hartón y Hartón doble tallo.

<i>Musa</i>	N° Explantes iniciales	N° Explantes contaminados	% de contaminación
AAB cv. Hartón	20	5	25
Hartón “Doble Tallo”	20	8	40

Grado de Oxidación fenólica en explantes *in vitro* de *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón “Doble Tallo”

Según Cajacuri (2007), los diferentes grados de oxidación observados en los explantes, se expresan siguiendo la siguiente escala: Ligeramente oxidado (++); moderadamente oxidado (+++); oxidado (++++) y necrótico (+++++).

En este sentido, el trabajo presentado por Cajacuri (2007), indica que para plátano *Musa* AAB cv. Hartón presentan oxidación entre ligeramente oxidado y moderadamente oxidado para todos los ciclos evaluados. Todos los explantes tratados, presentaron oxidación desde su iniciación hasta la fase de aclimatación; en general los explantes mostraron una oxidación que promedió entre moderadamente oxidado (+++) para *Musa* AAB cv. Hartón con un porcentaje de muerte a causa de necrosis del 20%; y oxidado (+++++) con 65% de muerte en explantes necróticos para el Hartón “Doble Tallo”; lo que indica una producción superior de fenoloxidasas en los explantes correspondientes al clon Hartón “Doble Tallo” con respecto al Hartón normal (Tablas 5 y 6).

Tomadas las observaciones pertinentes como el conteo de rebrotes por explante, se determinó que para el material vegetal *Musa* AAB cv. Hartón el promedio de brotes hasta el último repique en medio BAP, fue de cuatro (4) rebrotes por explantes, a diferencia del plátano Hartón “Doble Tallo”, el

cual mostró un crecimiento tardío de su masa vegetal observándose únicamente la presencia de callos.

Tabla 5. Grado de oxidación en los explantes *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón “Doble Tallo”.

<i>Musa</i>	Grado de oxidación promedio	% de muerte por necrosis
AAB cv. Hartón	+++	20
Hartón “Doble Tallo”	+++++	65

Para la fase de enraizamiento *in vitro*, los propágulos obtenidos al inicio del mes cuatro de montar el ensayo, se establecieron en medio de cultivo para la inducción de raíces, utilizando Ácido indolbutírico (AIB) como fuente auxina, de tal manera que se induzca a la formación de raíz en los diversos explantes. En esta etapa del cultivo de tejido, el comportamiento de *Musa* AAB cv. Hartón fue apropiado y ajustado al tiempo fisiológico necesario para llegar a esta

etapa, presentando una cantidad de raíces promedio de tres (3) raíces definidas originadas de la base del explante las cuales se fijaron directamente al medio AIB; durante esta etapa, el tiempo de sometimiento en medio AIB fue de un

mes, donde el crecimiento y desarrollo de la plántula en todos sus órganos fue rápido dando pie al inicio de otra fase: la aclimatación o adaptación de las pequeñas plantas a las condiciones ambientales.

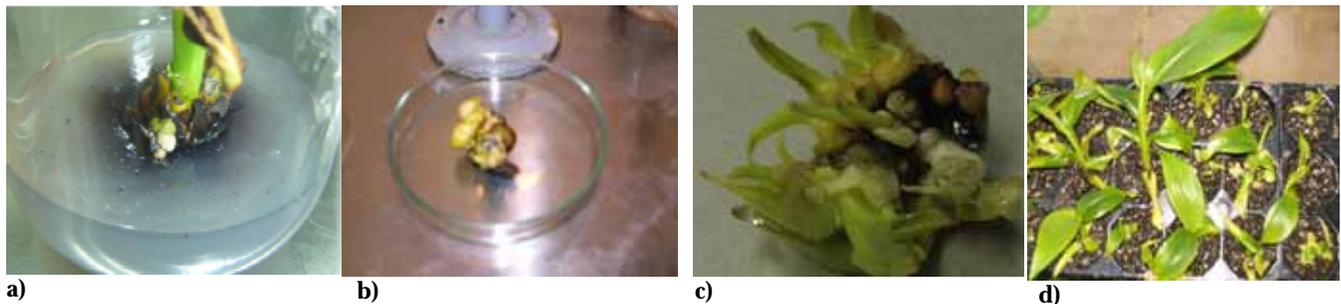


Figura 01. Proceso de micropropagación de explantes de *Musa* AAB. a) Oxidación en la base del explante de *Musa* AAB cv. Hartón sobre el medio b) Inicio de la fase de enraizamiento. c) Rebrotos en explante de *Musa* AAB cv. Hartón. d) plántulas transplantadas en sustrato inerte.

Tabla 6. Número de brotes por explante de plátano *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón “Doble Tallo”.

<i>Musa</i>	Número de brotes por explante promedio
AAB cv. Hartón	4
Hartón “Doble Tallo”	0

En el material de Hartón “Doble Tallo” durante la fase inicial, ninguno de los explantes cumplió con los indicadores necesarios para establecerse en el medio de enraizamiento, observándose únicamente estructuras de callo y hojas en los explantes, es por ello que no avanzaron a la fase de aclimatación y continuaron bajo medio BAP.

Tabla 7. Comportamiento *in vitro* de plátano *Musa* AAB cv. Hartón

Medios	Días	Grado de oxidación	Brote/explante	Cambios	Exp. muertos	Explantes vivos
BAP	30	++++			8	12
	60	++++			9	9
	90	++++	3	3	2	7
	120	++++	4	3	0	7
	150	++++	4	4	1	6
	180	++++	4	4	1	5
Plántulas Aclimatadas		N° aclimatadas	En brotación		Enraizados	
	240	0	5		0	

% de muerte por contaminación 62,5 %
%muerte por necrosis:37,5 %

Tabla 8. Comportamiento *in vitro* de *Musa* Hartón “Doble Tallo”

Medios	Días	Grado de oxidación	Brote/explante	Cambios	Brotes muertos	Numero de brotes	Explantes vivos
BAP	30	+++					20
	60	++++					25
	90	+++	3	3	3	20	12
	120	+++	4	3	3	22	
AIB	150	+++	4	4	2	17	
	180	++	4	4	2	21	
Plántulas Aclimatadas		N° aclimatadas	Brote/explante	En brotación	Enraizados	Brote explante	Explantes vivos
	210	36	4	27	19	4	82

% de muerte por contaminación 33,3 %
%muerte por necrosis: 66,6 %

Aclimatación *in situ* de plántulas de *Musa* AAB cv. Hartón

Al inicio del sexto mes, la mayoría de plántulas obtenidas *in vitro* de *Musa* AAB cv. Hartón (36 unidades) fueron aclimatadas en sustrato (abono de río y vermiculita) bajo condiciones ambientales en una cámara de aclimatación donde se observó humedad en las paredes de la cámara producto del proceso fisiológico de transpiración; para su mantenimiento se preparó una solución con minerales y

fertilizante a baja concentración. El tiempo de establecimiento y observación de estructuras para ambos clones fue variado, como lo muestra las tablas 7 y 8 donde se describe en líneas generales la ruta experimental del comportamiento *in vitro* de plátano *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón "Doble Tallo".

CONCLUSIONES

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, representa una alternativa para el desarrollo de nuevas técnicas en beneficio de las ciencias agrícolas, y así contar con semillas y plántulas viables para su producción en campo.

En la evaluación *in vitro* de plátano *Musa* AAB cv. Hartón en condiciones controladas de laboratorio, se puede mencionar que la concentración manejada de la citoquinina BAP (5 mg/L) y del AIB (1.30 mg/l) es adecuada para la fase de establecimiento, multiplicación y enraizamiento.

El cultivar plátano Hartón (*Musa* AAB) mostró un comportamiento óptimo durante su desarrollo en las fases del cultivo *in vitro* de tejido, obteniendo plántulas aptas para aclimatar en un periodo inferior a los seis meses mientras que El plátano Hartón "Doble Tallo" demostró un crecimiento y desarrollo tardío durante el mismo periodo que *Musa* AAB cv. Hartón.

El grado de oxidación y porcentaje de mortalidad a causa de necrosis en explantes *in vitro* de plátano Hartón Doble Tallo, indica una tasa de producción de fenoloxidasas superior al de los explantes de plátano *Musa* AAB cv. Hartón.

La reducción del tejido de reserva, eliminación de tejidos oxidados y primordios foliares, así como los repiques continuos de los explantes, optimizan el cultivo de meristemos e incrementan los índices de multiplicación de yemas en los explantes de *Musa* AAB cv. Hartón.

Los explantes establecidos *in vitro* de *Musa* AAB cv. Hartón y Hartón "Doble Tallo" fueron manejados bajo las mismas condiciones de laboratorio obteniendo variantes significativas en su comportamiento, lo que podría indicar variabilidad genética del material vegetal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Cajacuri, M. (2007). Evaluación morfológica e histológica del proceso de formación de yemas múltiples de *Musa* (AAB) cv. Plátano Hartón. Trabajo de Grado. Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela. pp:19-25.
- Canchignia, F. y Ramos, L. (2004). Micropropagación de plátano variedad barraganete. Laboratorio de biotecnología vegetal. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 6 pp.
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Disponible en http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/ad/2004/ad_382.pdf.
- Colmenares, M. y Giménez C., (2003). Multiplicación *in vitro* *Musa* spp., mediante sistema de inmersión temporal. Revista Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. 20:468-477.
- Del Valle, R. (2002). Bananos (*Musáceas de fruto comestible*) notas de apoyo sobre el tema. Universidad del Táchira. 21 pp.
- Hurtado, D y Merino, M. (1987). Cultivo de tejidos vegetales. Editorial Trillas. Primera Edición. Ciudad de México D.F. pp. 231.
- Jiménez, E. (1998). Cultivo de ápices y meristemos. Citado por Pérez, J. (1998). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Volumen 1, Capítulo 3. Pág. 45-56.
- Leyva, A. y Paz-ares, J. (2000). Los retos de la agricultura en el Siglo XXI. Departamento de genética molecular de plantas. Centro Nacional de Biotecnología-CSIC. Campus de la Universidad Autónoma. 28049 Madrid-España. pp. 25-37.
- Murashige, T. y Skoog, T. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology, P1. 15: 473-497.
- Panis, B., Wauwe, V., Swennen, R., (1993). Plant regeneration through direct somatic embryogenesis from protoplast of banana (*Musa* spp.). Plant cell rep. V12, Numbers 7-8. pp. 403-407.
- Pérez, M. (2000). Biotecnología: Herramientas y aplicaciones. Centro Nacional de Biotecnología (CSIC). Campus de la Universidad Autónoma. 28049 Canto Blanco (Madrid-España), pp. 19-24.
- Pérez, O. (2006). Efecto de la contaminación bacteriana en la micropropagación de FHIA 18 (*Musa* spp *hibrido* AAAB) en la Biofábrica de Cienfuegos. Tesis de Maestría. Universidad Agraria de la Habana "Fructoso Rodríguez Pérez". Cuba. pp. 65.
- Roux, N. (2004). Mutation induction in *Musa*-review in: banana improvement. Cellular, molecular biology, and induced mutations science publishers inc, U.S.A. pp: 23-32.
- Tenkouano, A. y Swennen R. (2004). Progress in breeding and delivering improved plantain and banana to African farmers. Chronica Horticult.44:9-15.
- Trujillo, E. (2005). Las musáceas. Artículo publicado en la página web: <http://www.monografias.com/trabajos19/musaceas/musaceas.shtml>.
- Vásquez, A., Tapia, A., y Galindo, J. (1990). Ultrastructural studies of the infection process of *Mycosphaerella fijiensis* of *Musa* cultivars. Euphytica 88:25-34.