

NOTA TÉCNICA

CULTIVO *IN VITRO* DE YEMAS, TRATADAS CON BENCILADENINA, PROVENIENTES DE CORMOS ENTEROS O SECCIONADOS DE PLÁTANO ‘CAMBUR MANZANO’

Gleymis Rios¹, Neirice Añez¹, Maribel Ramírez¹, Belkys Bracho², Deisy Araujo³, Hallely Suárez¹ y Juan Nava⁴

RESUMEN

En Venezuela, el interés de pequeños y medianos productores por el cultivo del plátano “Cambur manzano” ha generado demanda del material vegetal de siembra, que debe garantizar la genética y normas mínimas de sanidad para el establecimiento de plantaciones sanas y uniformes. Esta investigación planteó la evaluación del cultivo *in vitro*, bajo distintas dosis de benciladenina-BA (0, 2,5 y 5,0 mg·L⁻¹), de yemas apicales del vástago del cultivo extraídas de plantas provenientes de cormos enteros y seccionados. Adicionalmente se multiplicó el material con las mismas concentraciones de BA. Las dosis de BA y el seccionamiento del corno no afectaron el porcentaje de explantes con yemas brotadas (PEB) y viables (PEV) luego de 8 semanas del establecimiento, y se obtuvo una baja contaminación en las yemas (19,97±9,97 %). Durante la multiplicación no se hallaron microorganismos contaminantes y sólo las yemas en medio nutritivo con BA lograron mantenerse viables (100 %) y desarrollar plantas; sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre las dosis de 2,5 y 5,0 mg·L⁻¹ de BA para PEB (86,33±0,83 %), brotes por explante (1,7±0,08 brotes), explantes con brotes en forma de “coliflor” (48,83±3,78 %) y número de estos brotes por explante (2,6±0,19 brotes). Por tal razón, la dosis de 2,5 mg·L⁻¹ de BA se considera la adecuada para la multiplicación *in vitro* del plátano “Cambur manzano”.

Palabras clave adicionales: *Musa* sp., viabilidad, brotación, seccionamiento de cormos

ABSTRACT

***In vitro* culture of buds, treated with benzyladenine, coming from whole and sectioned corms of plantain "Cambur manzano"**
In Venezuela, the interest of small and medium producers for cultivation of plantain "Cambur manzano" has generated a great demand for propagation material, which must have high genetic and sanitary quality to ensure the establishment of healthy and uniform plantations. The objective of this research was to evaluate *in vitro* culture of apical buds of this crop under different benzyladenine concentrations [BA] (0, 2.5 and 5.0 mg·L⁻¹). The buds were obtained from plants coming from whole or sectioned corms. Additionally, the material was multiplied under the same [BA]. The [BA] and sectioning of the corm did not affect the percentage of explants with sprouted buds (PES) and viable explants (PVE) after 8 weeks of establishment, and a low contamination of the apical buds (19.97±9.97 %) was observed. During multiplication, contaminant microorganisms were not detected, and only the buds in medium with benzyladenine managed to stay viable (100%) and developed as plants. No differences were found between 2.5 and 5.0 mg·L⁻¹ BA for PES (86,33±0,83 %), shoots by explant (1,7±0,08 shoots), explants with shoots with “cauliflower” shape (48,83±3,78 %) and number of such a shoots by explant (2,6±0,19 shoots). Therefore, the [BA] of 2.5 mg·L⁻¹ seems to be the appropriate for *in vitro* multiplication of plantain "Cambur manzano".

Additional key words: *Musa* sp., viability, sprouting, corm sectioning

INTRODUCCIÓN

El plátano “Cambur manzano” (*Musa* sp., AAB) constituye uno de los principales cultivos

en los trópicos. En Venezuela, los estados Trujillo y Zulia son importantes productores dada su alta rentabilidad y alta demanda en el mercado nacional, así como de su potencial uso en la

Recibido: Julio 17, 2012

Aceptado: Mayo 6, 2013

¹Dpto. Botánica. ²Dpto. Estadística. ³Dpto. Fitosanitario. ⁴Dpto. Agronomía. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia (LUZ). Apdo. 15205. Maracaibo. Venezuela. e-mail: grios@fa.luz.edu.ve; mcramire@fa.luz.edu.ve

agroindustria (Arellanes et al., 2011). Sin embargo, el cultivo presenta susceptibilidad a enfermedades como Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*), Hereque (*Ralstonia solanacearum*) y Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) (Aular y Casares, 2011), que han ocasionado pérdidas en la producción de frutas y ha afectado la disponibilidad de material vegetal de propagación sano. Esto ha generado gran demanda de material de propagación.

La micropropagación de plátanos mediante yemas apicales del vástago es una técnica generalizada por sus múltiples ventajas en la propagación clonal de plantas sanas (García et al., 2002), pues este tipo de explante permite una adecuada estabilidad genética, con mínimas mutaciones o quimeras. Uno de los aspectos más determinantes de la micropropagación clonal es la etapa de establecimiento, y en algunos plátanos, es frecuente durante esta etapa la presencia de microorganismos, oxidación fenólica de los tejidos, baja viabilidad y baja brotación, por lo que se hace necesario la realización de pretratamientos a las plantas madres para mejorar el establecimiento de los explantes (Ramírez et al., 2004). Inconvenientes de alta oxidación fenólica y mortalidad han sido reportados recientemente en el plátano “Cambur manzano” (Albarán et al., 2009; Uzcátegui et al., 2010).

En *Musa* spp., es conocido el efecto benéfico de las citocininas sobre la formación de vástagos o brotes axilares en yemas apicales cultivadas *in vitro* (Hoyos, 2008; Ramírez et al., 2008). No obstante, se dispone de muy poca información referida a la propagación *in vitro* del plátano “Cambur manzano” (Silva et al., 2009) mediante la utilización de yemas apicales del vástago. Dada la importancia de este cultivo en Venezuela y a la necesidad de contribuir con los pequeños y medianos productores de los estados Trujillo y Zulia, el objetivo de esta investigación fue cultivar y multiplicar *in vitro*, bajo distintas dosis de benciladenina, yemas apicales del vástago de plátano “Cambur manzano”, proveniente de cormos enteros y seccionados.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal de esta investigación se obtuvo de plantas de plátano “Cambur manzano” provenientes de cormos donados por la finca “La Vega Norte” ubicada en el municipio La Ceiba,

estado Trujillo, costa sur oriental del Lago de Maracaibo. La precipitación anual es 1.221 mm y la temperatura media 27,5 °C. La plantación de los cormos se realizó en el vivero de la Universidad del Zulia, ubicado a una altitud de 25 msnm con temperatura promedio de 28°C y 79 % HR.

Los cormos se limpiaron manualmente, eliminándoles las raíces y partes necrosadas con ayuda de navajas, agua y cloro comercial al 10 % (0,5 % de hipoclorito de sodio). Luego, se lavaron y sumergieron por 5 min en cloro comercial al 10 %, se enjuagaron, pesaron y clasificaron en tres grupos identificados como: entero (peso de 500 a 650 g), seccionado grande (peso de 500 a 650 g) y seccionado pequeño (peso de 350 a 500 g). El seccionamiento consistió en dividir el cormo en cuatro partes iguales antes de la plantación.

Cada grupo de cormos se sumergió en una mezcla de 1 mL·L⁻¹ de Lannate y 3 g·L⁻¹ de Captan durante 15 min. Seguidamente se plantaron, con una separación de 50 cm, en canteros que contenían una mezcla de dos partes de arena y una de estiércol de bovino lavado, tratada con el fungicida Ridomil a razón de 3 g·L⁻¹ dos días antes de la plantación. El riego se realizó cada tres días y el control de malezas manual una vez a la semana. El propagador estaba cubierto con una malla tipo Sarán que restringía el 60 % de la luz. El material plantado se mantuvo bajo estas condiciones durante 3 meses.

Una vez recolectadas las plantas de plátano “Cambur manzano” cultivadas durante 3 meses bajo condiciones de vivero, de acuerdo a los tipos de cormos descritos, se cortaron a 10 cm de su base, se les eliminaron las raíces, se lavaron con agua y se procedió a quitar varias vainas del tallo y porciones del cormo hasta reducirlas a 25 cm de largo aproximadamente, para luego sumergirlas en cloro comercial al 10 % durante 10 min antes de trasladar el material al laboratorio. En este último se redujeron nuevamente a 5-6 cm de longitud y 2-2,5 cm de diámetro y se desinfectaron con cloro comercial al 25 % (1,25% de hipoclorito de sodio) más 5 gotas de jabón líquido comercial durante 5 min, bajo condiciones asépticas, y posteriormente se enjuagaron con agua destilada esterilizada. Después se eliminaron las restantes vainas y parte del cormo hasta obtener una yema apical (Figura 1A) del vástago de 1,5 cm de diámetro por 2 cm de largo.

Las yemas apicales del vástago se cultivaron en el medio de Murashige y Skoog (MS), sales y

vitaminas, más $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sacarosa, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido ascórbico, $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agar-agar y BA a concentraciones de 0, 2,5 y $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. El cultivo se realizó en frascos de vidrio con 30 mL de medio, pH 5,8 antes de su esterilización a temperatura de $121 \text{ }^\circ\text{C}$ y $1,1 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ de presión por 15 min. Los explantes fueron expuestos a luz blanca fluorescente continua ($35 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) a $25\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

Después de 2 meses de establecidas, las yemas apicales del vástago se trasladaron al medio de multiplicación, constituido por el MS descrito anteriormente con $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido ascórbico, y distribuido en frascos de vidrio con 100 mL de medio. Este medio de multiplicación contenía las mismas concentraciones de BA empleadas en la etapa de establecimiento. Cada 30 días por un período de 6 meses se realizaron subcultivos a medio fresco de los brotes axilares producidos por cada yema, sumergiéndolos en una solución de ácido ascórbico (75 mg L^{-1}) antes de la siembra. Las condiciones de luz y temperatura fueron las mismas indicadas en el establecimiento *in vitro* de los explantes.

En los experimentos se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones, donde la unidad experimental estuvo conformada por tres explantes en un envase. En la etapa de establecimiento se evaluaron las tres concentraciones de BA y tres niveles de seccionamiento del cormo para un total de nueve tratamientos. Al finalizar la etapa (dos meses) se evaluó el porcentaje de explantes viables (vivos sin contaminación, PEV), porcentaje de explantes oxidados (con ennegrecimiento de los tejidos), porcentaje de explantes con microorganismos (PEM), porcentaje de explantes con yemas brotadas (PEB) y número de brotes por explante (NBE). En la etapa de multiplicación se evaluó el efecto de la concentración de BA (tres tratamientos) y se midieron PEV, PEM, PEB, NBE, porcentaje de explantes con presencia de brotes en forma de “coliflor” (Strosse et al., 2006) y número de estos brotes por explante. Se realizó un Anova de los resultados empleando el paquete estadístico SAS (Cary, NC); previamente los PEM y PEB fueron transformados mediante la ecuación $Y = \arccoseno (X/100)^{1/2}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la etapa de establecimiento se obtuvo un alto porcentaje de explantes viables y bajo

porcentaje de explantes con microorganismos hacia las ocho semanas de cultivo (Figura 1B). Los efectos individuales de la concentración de BA y del seccionamiento del cormo así como de su interacción no mostraron diferencias significativas en las variables PEV, PEM y PEB. A pesar de que hubo una baja contaminación en las yemas apicales del vástago ($19,97\pm 9,97 \%$), se observó una tendencia a destacarse en aquellas provenientes de los cormos pequeños ($33,33\pm 5,91 \%$). Los cormos grandes (seccionados y enteros) presentaron $14,28\pm 7,14 \%$ de explantes con microorganismos. La contaminación se debió sólo a bacterias, las cuales se observaron a partir de la primera semana de cultivo.

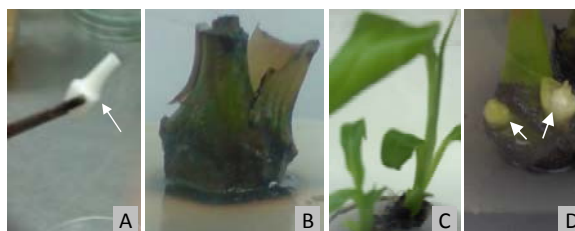


Figura 1. A) Yema apical (flecha) del vástago del plátano “Cambur manzano” al inicio del establecimiento *in vitro*. B) La misma yema a las 8 semanas. C) Planta, sexto subcultivo en medio con BA. D) Brotes en forma de “coliflor” (flechas) a partir del tercer subcultivo

A partir de la primera semana de cultivo se apreció un engrosamiento y un ligero ennegrecimiento u oxidación en la base de todas las yemas apicales del vástago (100% de explantes oxidados). La oxidación de los tejidos se incrementó con el transcurso de las semanas; sin embargo, las yemas se mantuvieron viables durante el período evaluado. La oxidación se asoció al tipo fenólico, el cual provoca un fenómeno de ennegrecimiento que ocurre por la acción de enzimas que se liberan o sintetizan cuando los tejidos sufren heridas (Ramírez, 1998). Estas enzimas, contenidas en el citoplasma y las vacuolas (Laukkanen et al., 1999), activan reacciones que pueden afectar a las proteínas, y en consecuencia inhibir el crecimiento y la viabilidad de los explantes (Ramírez, 1998).

Una alta oxidación en los explantes también fue señalada durante el cultivo de ápices de plátano Hartón y Hartón Doble Tallo (Uzcátegui

et al., 2010), y en la embriogénesis somática del plátano “Cambur manzano” a partir de manos florales masculinas (Villegas et al., 2008; Albarran et al., 2009); en ambas investigaciones se indicó una oxidación generalizada de los explantes que ocasionó una alta mortalidad.

Hacia las 8 semanas del establecimiento se obtuvo un alto porcentaje de explantes viables ($80,38 \pm 11,2$ %) y ($14,83\% \pm 7,8$ %) de explantes con yemas brotadas, los cuales procedían de yemas apicales del vástago cultivadas en medio nutritivo con $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BA, o bien de las yemas extraídas de cormos enteros. Ambos casos mostraron 1,5 brotes por explante (Cuadro 1); esta baja proliferación de brotes se podría asociar a que los cultivares y las especies de *Musa* con genoma balbisiano muestran bajo índice de multiplicación o ninguna respuesta durante su establecimiento *in vitro* (Colmenares y Giménez, 2003b). La capacidad de proliferación de brotes en *Musa* también depende del cultivar y del clon (Ramírez et al., 2008; 2011).

Cuadro 1. Brotación de yemas después de 8 semanas de cultivo bajo distintas concentraciones de benciladenina (BA) de explantes del plátano “Cambur manzano”, procedentes de cormos enteros y seccionados

Tratamiento	Explantes con yemas brotadas (%)	Número de brotes por explante
Concentración de BA		
0	0	0
$2,5 \text{ mg L}^{-1}$	0	0
$5,0 \text{ mg L}^{-1}$	$15,38 \pm 7,69$	$1,5 \pm 0,61$
Seccionamiento del cormo		
Entero (500 a 650 g)	$14,28 \pm 7,13$	$1,5 \pm 0,53$
Seccionado (500 a 650 g)	0	0
Seccionado (≥ 350 y < 500 g)	0	0

En la etapa de multiplicación no se detectó la presencia de microorganismos contaminantes y se encontró que sólo las yemas cultivadas en medio nutritivo que contenía BA lograron mantenerse viables (100 %) y desarrollar plantas (Figura 1C), comparadas con las del testigo, en el cual en el

segundo subcultivo no hubo explantes viables. El medio de cultivo en la mayoría de los envases se tornó oscuro o ennegrecido a pesar de que contenía ácido ascórbico. No se detectaron diferencias ($P > 0,05$) entre las concentraciones de $2,5$ y $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BA para el porcentaje de explantes con yemas brotadas ($86,33 \pm 0,83$ %) y el número de brotes por explante ($1,7 \pm 0,08$ brotes) en ninguno de los seis subcultivos realizados; tampoco hubo diferencias para el porcentaje de explantes con presencia de brotes en forma de “coliflor” ($48,83 \pm 3,78$ %) ni en el número de estos brotes por explante ($2,6 \pm 0,19$ brotes) a partir del tercer subcultivo (Cuadro 2, Figura 1D). Entre los subcultivos de ambas concentraciones tampoco hubo diferencias ($P > 0,05$). Esto permite sugerir que la concentración de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BA, o bien alguna cercana a ésta, podría ser la adecuada para la multiplicación de la planta.

Cuadro 2. Explantes viables y brotación de yemas del plátano “Cambur manzano” ante la presencia de benciladenina (BA) durante la etapa de multiplicación

	Sin BA	Con BA
Explantes viables (%) 2 ^{do} al 6 ^{to} subcultivo	0	100
Explantes c/ yemas brotadas (%) 1 ^{er} al 6 ^{to} subcultivo	0	$86,33 \pm 0,83$
Brotes p/ explante 1 ^{er} al 6 ^{to} subcultivo	0	$1,7 \pm 0,08$
Brotes “coliflor” (%) 3 ^{er} al 6 ^{to} subcultivo	0	$48,83 \pm 3,78$
Brotes “coliflor” p/ explante 3 ^{er} al 6 ^{to} subcultivo	0	$2,6 \pm 0,19$

Al comparar los resultados obtenidos en la etapa de multiplicación con los de otras investigaciones se encontró que el número de brotes por explante del plátano “Cambur manzano” superó al reportado por Silva et al. (2009), quienes obtuvieron 0,85 brotes por explante al utilizar 5 mg L^{-1} de BA, y 2,3 brotes por explante al emplear una alta concentración de BA (10 mg L^{-1}). Por otra parte la formación de pocos racimos de brotes pequeños en forma de “coliflor” de 1 a 1,5 cm de diámetro (Figura 1D) en la base del explante reflejó la baja capacidad de proliferación del plátano “Cambur manzano”, tomando en consideración la clasificación descrita por Strosse et al. (2006) para plátanos y bananos.

No se detectaron diferencias entre 2,5 y 5,0 mg·L⁻¹ de BA en la etapa de multiplicación, pero los resultados demostraron que la presencia de esta citocinina en el medio nutritivo es necesaria para favorecer la brotación, el desarrollo de los brotes y la viabilidad de los explantes. En otros cultivares la BA también ha mejorado la proliferación de brotes en plátano Hartón (AAB) (Colmenares y Giménez, 2003a; Silva et al., 2010), Hartón dominico (Hoyos et al., 2008) y *Musa balbisiana* (Sepúlveda et al., 2008).

El bajo número de brotes por explante obtenido en el establecimiento y la multiplicación del plátano “Cambur manzano” podría sugerir la evaluación de concentraciones de BA alrededor de 2,5 mg·L⁻¹ y de otras citocininas. Sin embargo, también sería necesaria la verificación de la variabilidad genética de las plantas regeneradas debido a que las altas concentraciones BA pueden estimular la formación de yemas adventicias, la producción de nuevos explantes y variantes somaclonales, estos últimos han sido indicados en *Musa* (Matsumoto et al., 2006). Investigaciones realizadas durante la multiplicación *in vitro* del plátano “Cambur manzano”, mediante marcadores RAPD, han indicado poca variabilidad genética en plantas obtenidas bajo condiciones de altas concentraciones de BA (15 mg L⁻¹) (Silva et al., 2009); sin embargo, los autores no evaluaron el porcentaje de variabilidad genética para cada concentración.

El protocolo utilizado para el cultivo aséptico de yemas apicales del vástago del plátano “Cambur manzano” procedentes de cormos cultivados bajo condiciones de vivero representa una contribución hacia la micropropagación de este frutal, y sientan bases para la continuación de estudios para mejorar la respuesta de brotación de los explantes y la sanidad del material vegetal. El protocolo descrito presentó un bajo porcentaje de explantes con microorganismos durante el establecimiento, alto porcentaje de explantes viables-vivos sin contaminación- y un número de brotes por explantes de 1,7 en la etapa de multiplicación. Aún cuando la oxidación de los tejidos no afectó la viabilidad de los explantes durante el período de evaluación, es necesaria la continuación de estudios que permitan disminuir la oxidación de los tejidos e incrementar la brotación de los explantes.

CONCLUSIONES

El establecimiento *in vitro* de yemas apicales del vástago de plátano “Cambur manzano” no se vio afectado por la concentración de benciladenina ni por el seccionamiento del cormo. Durante esta etapa se obtuvo un alto porcentaje de explantes viables sin microorganismos y brotación de yemas en la concentración de 5 mg L⁻¹ de BA y en los explantes extraídos de cormos enteros cultivados en vivero. En la etapa de multiplicación la dosis 2,5 mg·L⁻¹ de BA resultó la más apropiada para favorecer la brotación de las yemas.

AGRADECIMIENTO

Al CONDES-LUZ por el financiamiento de esta investigación bajo el proyecto No. 0574-10. Al Vivero Universitario de LUZ por proporcionar sus instalaciones para llevar a cabo parte de esta investigación.

LITERATURA CITADA

1. Albarran, J., A. González, O. González, E. Salazar, I. Trujillo, M. Fuchs y M. Torrealba. 2009. Embriogénesis somática a partir de flores masculinas de Pineo gigante y Cambur manzano. *Agronomía Tropical* 59(4): 363-371.
2. Arellanes, A., M. Jaraba, Z. Mármod, G. Páez, C. Aiello y M. Rincón. 2011. Obtención y caracterización de pectina de la cáscara del cambur manzano (*Musa* AAB). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 28: 523-539.
3. Aular, J. y M. Casares. 2011 Consideraciones sobre la producción de frutas en Venezuela. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33(1): 187-198.
4. Colmenares, M. y C. Giménez. 2003a. Nuevas estrategias para la inducción de brotes en musáceas. <http://www.redbio.org/portal/> (revisión del 28/03/2011).
5. Colmenares, M. y C. Giménez. 2003b. Multiplicación *in vitro* *Musa* spp., mediante sistema de inmersión temporal. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 20(4): 468-477.
6. García, L., B. Pérez, Z. Sarría y J. Clavero. 2002. Alternativas para la propagación *in vitro* del cultivar híbrido FHIA-20. *InfoMusa* 8(2): 35-38.

7. Hoyos, J., R. Perea y R. Velasco. 2008. Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en la micropropagación del plátano dominico Hartón (*Musa* AAB Simmonds). *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 6(2): 7-18.
8. Laukkanen, H., H. Häggman, S. Kontunen-Soppela, y A. Hohtola. 1999. Tissue browning of *in vitro* cultures of Scots pine: Role of peroxidase and polyphenol oxidase. *Physiologia Plantarum* 106: 337-343.
9. Matsumoto, K., L. Styer y Y. Yamamoto. 2006. Response of banana dwarf somaclonal variants to benzylaminopurine. *InfoMusa* 15(1-2): 27-29.
10. Ramírez, M. 1998. Tratamientos a plantas madres y al explante para el establecimiento del guayabo (*Psidium guajava* L.). Tesis. Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. 132 p.
11. Ramírez, M., H. Lindorf y E. García. 2008. Cambios morfoanatómicos en los ápices del vástago y de la raíz del banano Williams (AAA, *Musa* sp.) bajo distintas concentraciones de N6 –benciladenina. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 92(1-2):53-72.
12. Ramírez, M., H. Lindorf y E. García. 2011. Cambios morfoanatómicos del ápice del vástago en banano CIEN BTA-03 y su parental Williams bajo condiciones *in vitro*. *Revista de la Facultad de Agronomía de LUZ* 28 (Supl. 1): 62-72.
13. Ramírez, M., S. Sierralta, A. Nava y M. Marín. 2004. Manejo de plantas madres para el cultivo *in vitro* de segmentos nodales del guayabo (*Psidium guajava* L.). *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 88(1-2): 73-89.
14. Sepúlveda, N., M. Murillo y M. Medina. 2008. Propagación *in vitro* de musáceas del Choco a partir del cultivo de meristemas radiculares. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Choco: Investigación, Biodiversidad y Desarrollo* 27(1): 96-99.
15. Silva, A., G. Trujillo y E. Salazar. 2010. Proliferación *in vitro* de brotes de plátano Hartón (*Musa* AAB, subgrupo plátano CV. Hartón). *Biotechnología vegetal* 4 (6): 229-230.
16. Silva, A., I. Trujillo, M. Vidal y V. Pérez. 2009. Evaluación de la inducción de variabilidad genética en Cambur manzano (*Musa* AAB) a través de marcadores RAPD. *Agronomía Tropical* 59 (4): 413-422.
17. Stosse, H., H. Schoofs, B. Panis, E. Andre, K. Reyniers y R. Swennen. 2006. Development of embryogenic cell suspensions from shoot meristematic tissue in bananas and plantains (*Musa* spp.). *Plant Science* 170:104-112.
18. Uzcátegui, J., D. Osorio y M. Rivas. 2010. Evaluación del comportamiento *in vitro* de ápices de plátano *Musa* AAB cv. “Hartón” y “Hartón Doble Tallo”. *Producción Agropecuaria* 3(1):7-12.
19. Villegas, Z., C. Giménez, J. Vilchez, M. Moreno, L. Sandoval y M. Colmenares. 2008. Oxidación en la inducción de la embriogénesis somática a partir de flores masculinas inmaduras de Gran Enano (*Musa* AAA). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 25:570-588.