

Efecto del uso combinado de dos citoquininas en la multiplicación y regeneración de yemas adventicias de banano cv. 'Gros Michel' (*Musa AAA*)

Idalmis Bermúdez-Carabaloso^{1*}, Mayelín Rodríguez Urquiza¹, Maritza Reyes Vega¹, Alejandro Jiménez Padrón²

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

²Facultad de Ciencias Agrícolas, Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Cienfuegos Carlos Rafael Rodríguez. Carretera a Rodas km 4 Cuatro Caminos. *Cienfuegos*. Cienfuegos. Cuba. CP 55100.

*Autora para correspondencia e-mail: idalmis@ibp.co.cu

RESUMEN

En los programas de mejoramiento genético es importante contar con un sistema de regeneración de plantas eficiente. En el cultivar 'Gros Michel' (*Musa AAA*) resulta difícil la obtención de yemas adventicias debido a la alta dominancia apical. La presente investigación se desarrolló con el objetivo de determinar el efecto de las citoquininas en la multiplicación y regeneración de yemas adventicias en dicho cultivar. Se establecieron tres tratamientos 6-BAP y TDZ combinados y cada uno de ellos por separado. Se emplearon secciones de 0.4 mm² de yemas adventicias con un subcultivo de multiplicación. Cada 30 días se cuantificó el número de yemas adventicias y brotes formados por explante. Posteriormente, se colocaron en un medio de cultivo libre de reguladores del crecimiento y a los 30 días se evaluó el porcentaje de brotes regenerados por explante, la altura del brote y el número de hojas emitidas. Los resultados demostraron que con cuatro subcultivos en un medio de cultivo con 6-BAP (2.0 mg l⁻¹) y TDZ (1.0 mg l⁻¹) se forman entre 1.5 y 8.0 yemas adventicias por explante con 92% de regeneración y altura superior a 2.0 cm, sin mostrar evidencias de cambios fenotípicos. Todo lo anterior confirma que la utilización de estas dos citoquininas combinadas a concentraciones más bajas y en un menor número de subcultivos brinda mayores posibilidades para la formación de yemas adventicias, su multiplicación y posterior regeneración lo cual posibilitará su empleo en los Programas de Mejora Genética de bananos.

Palabras clave: mejora genética, reguladores del crecimiento, tiazuron

Effect of the combined use of two cytokinins in the multiplication and regeneration of adventitious banana buds cv. 'Gros Michel' (*Musa AAA*)

ABSTRACT

In breeding programs it is important to have an efficient plants regeneration system. In the cultivar 'Gros Michel' (*Musa AAA*) it is difficult to obtain adventitious buds due to high apical dominance. The present investigation was developed with the objective of determining the effect of cytokinins on the multiplication and regeneration of adventitious buds in that cultivar. Three treatments were established with the combination of 6-BAP and TDZ and each of them separately. Sections of 0.4 mm² of adventitious buds with one multiplication subculture were used. The number of adventitious buds and shoots formed by explant was quantified every 30 days. Subsequently, it were placed in a culture medium free of growth regulators and after 30 days the percentage of shoots regenerated by explant, the height of the shoot and the number of leaves emitted were evaluated. The results showed that with four subcultures in a culture medium with 6-BAP (2.0 mg l⁻¹) and TDZ (1.0 mg l⁻¹) were achieved 1.5 to 8.0 adventitious buds per explant with 92% regeneration and height greater than 2.0 cm without showing

evidence of phenotypic changes. All of the above confirms that the use of these two cytokinins combined at lower concentrations and in a smaller number of subcultures provides greater possibilities for the adventitious buds formation, their multiplication and subsequent regeneration which will enable their use in the Genetic Improvement Programs of bananas.

Keywords: genetic improvement, growth regulators, thidiazuron

INTRODUCCIÓN

Los bananos (incluidos los plátanos y los bananos de cocción) son la fruta que más se produce en el mundo. En el 2018 se produjeron 148 millones de toneladas en 135 países y constituye una fuente de alimento y sustento para más de 400 millones de personas (Dusunceli, 2017). Las áreas de cultivo y producción se han incrementado progresivamente (FAO, 2018).

Por otro lado, a inicios del pasado siglo la industria y cultivo del banano experimentó una drástica reducción debido a la enfermedad conocida como Marchitez por *Fusarium* en bananos, ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) raza 1 y 2 y mucho más dramática recientemente con el avance de la raza Tropical de Foc (RT4) que afecta a más del 80% de los cultivares de *Musa* (Bubici *et al.*, 2019).

En los programas de mejoramiento genético es importante contar con un sistema de regeneración de plantas eficiente, que permita que las células mutadas o modificadas genéticamente puedan desarrollarse y regenerar plantas que manifiesten las características deseadas (Sinha *et al.*, 2018). En la mayoría de estos programas se utilizan estructuras multicelulares, lo cual provoca la aparición de quimeras que constituye una limitante. La obtención de explantes que se formen a partir de una o pocas células como los embriones somáticos y yemas adventicias resulta de suma importancia (García *et al.*, 2006).

El banano es uno de los cultivos que más intensamente se ha micropropagado, sin embargo una gran cantidad de sus cultivares necesitan ser evaluados *in vitro* antes de iniciar un programa de propagación masiva o de mejoramiento genético (Wijerathna y Kumarihami, 2016).

En *Musa* se ha desarrollado el cultivo de ápices por la vía de organogénesis directa a través

de yemas axilares o adventicias (Kulkarni *et al.*, 2007) con el empleo de diferentes citoquininas, pero se ha determinado que la tasa de multiplicación y de regeneración de las yemas se ve afectada significativamente por el tipo y concentración del regulador del crecimiento, el número de subcultivos así como el cultivar con el que se esté trabajando (Arinaitwe *et al.*, 2000).

La citoquinina más comúnmente utilizada ha sido 6-Bencilaminopurina (6-BAP) (Kulkarni *et al.*, 2007). Otros autores han empleado thidiazuron (TDZ) para inducir un mayor número de brotes. Sin embargo a altas concentraciones pueden inhibir su elongación y aumentar la aparición de plantas fuera de tipo o anormales (Bairu *et al.*, 2008). Otros autores las han utilizado de manera combinada (Liu *et al.*, 2017) pero demostraron que la respuesta dependía de la constitución genómica del cultivar objeto de estudio.

Hasta el momento, no se ha referido el uso combinado de estas citoquininas en la obtención de yemas adventicias, ni se ha descrito su efecto en la multiplicación y regeneración en plantas a partir de estas en el cultivar 'Gros Michel'. Por esta razón, la presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de la combinación de citoquininas en la multiplicación y regeneración de yemas adventicias de banano cultivar 'Gros Michel' (*Musa* AAA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron ápices de plantas del cultivar 'Gros Michel' crecidas en condiciones de campo, obtenidos de hijos tipo espada con una altura aproximada de 50 a 100 cm que fueron establecidos de acuerdo con la metodología propuesta por Orellana (1995).

Para la obtención de las yemas adventicias se colocaron brotes seccionados de 0.4 mm² provenientes de la fase de establecimiento *in vitro*, en los tres medios de cultivo que se

describen y en lo adelante serán los tratamientos establecidos.

Multiplicación de las yemas adventicias

Con el objetivo de determinar la influencia del número de subcultivos en la multiplicación *in vitro* de yemas adventicias del cultivar 'Gros Michel' (*Musa* AAA), se utilizaron dichas estructuras provenientes del primer subcultivo de multiplicación *in vitro*.

Se establecieron tres tratamientos:

Tratamiento 1: Medio de cultivo de formación de yemas adventicias, constituido por las sales y vitaminas Murashige y Skoog (1962) (MS) al 100% y sacarosa (30 g l⁻¹), ácido ascórbico (10 mg l⁻¹), ácido indol acético (AIA) (0.2 mg l⁻¹), 6-BAP (2.0 mg l⁻¹) y TDZ (1.0 mg l⁻¹), pH 5.8 y solidificado con Gelrite (MERCK) (2.0 g l⁻¹), según Bermúdez-Carabaloso *et al.* (2017) en estudios previos en este cultivar de banano.

Tratamiento 2: Medio de cultivo P4 compuesto por Sales y vitaminas MS, sacarosa (30 g l⁻¹), mio-inositol (100 mg l⁻¹), ácido ascórbico (10 mg l⁻¹), AIA (0.17 mg l⁻¹), 6-BAP (22.5 mg l⁻¹), pH 5.8 y se utilizó *Phytigel*® (SIGMA) 2.2 g l⁻¹ como agente gelificante, según Schoofs *et al.* (1998) comúnmente utilizado para la formación de yemas adventicias en *Musa*.

Tratamiento 3: Medio de cultivo compuesto por Sales y vitaminas MS, sacarosa (30 g l⁻¹), mio-inositol (100 mg l⁻¹), ácido ascórbico (10 mg l⁻¹), AIA (0.17 mg l⁻¹), TDZ (2.0 mg l⁻¹), pH 5.8 y se utilizó *Phytigel*® (SIGMA) 2.2 g l⁻¹ como agente gelificante, según Nahamya (2000) comúnmente utilizado para la formación de yemas adventicias en *Musa*.

Por cada tratamiento se emplearon cinco frascos de vidrio de 250 ml de volumen total con 30 ml de medio de cultivo cada uno y se colocaron cinco explantes por frasco para un total de 25 explantes por tratamiento. Los subcultivos se realizaron cada 30 días, y se evaluó el número de yemas adventicias y el número de brotes formados por explante.

Las condiciones de cultivo del material vegetal fueron cámaras de cultivo de luz solar con una densidad de flujo de fotones fotosintéticos que osciló entre 48.0-62.5 μmol m⁻²s⁻¹ y 27±2 °C.

Regeneración de brotes a partir de las yemas adventicias

Con los resultados obtenidos en el experimento anterior relacionados con el efecto del número de subcultivos en la multiplicación de las yemas adventicias, se colocaron dichas estructuras en un medio de cultivo libre de reguladores del crecimiento, que contenía: Sales MS 4.3 g l⁻¹, tiamina 1.0 mg l⁻¹ y sacarosa 20 g l⁻¹ (García *et al.*, 2006).

Se utilizaron cinco frascos de cultivo con cinco explantes cada uno para un total de 25 explantes por tratamiento. Las condiciones de cultivo fueron similares al experimento anterior.

A los 30 días de cultivo se cuantificó el número de hojas emitidas por brote, el número de brotes regenerados por yema adventicia y se calculó el porcentaje de regeneración, se midió la altura del brote (cm) desde la base del pseudotallo hasta la primera hoja totalmente expandida y se describió la presencia de variaciones fenotípicas. Para describir el color del follaje, se utilizó el código hexadecimal de colores (<http://www.cwp.linnet.edu/cwis/cwp.html>).

Análisis estadísticos

El diseño experimental empleado fue completamente aleatorizado. El procesamiento estadístico de los datos experimentales se realizó con la ayuda del Paquete estadístico *Statistic Packaged for Social Science (SPSS)* versión 18.0 para Windows (Microsoft ®). Al no cumplirse los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos se utilizaron las pruebas H de Kruskal-Wallis y U de Mann Whitney con un nivel de significación para $p > 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Multiplicación de las yemas adventicias

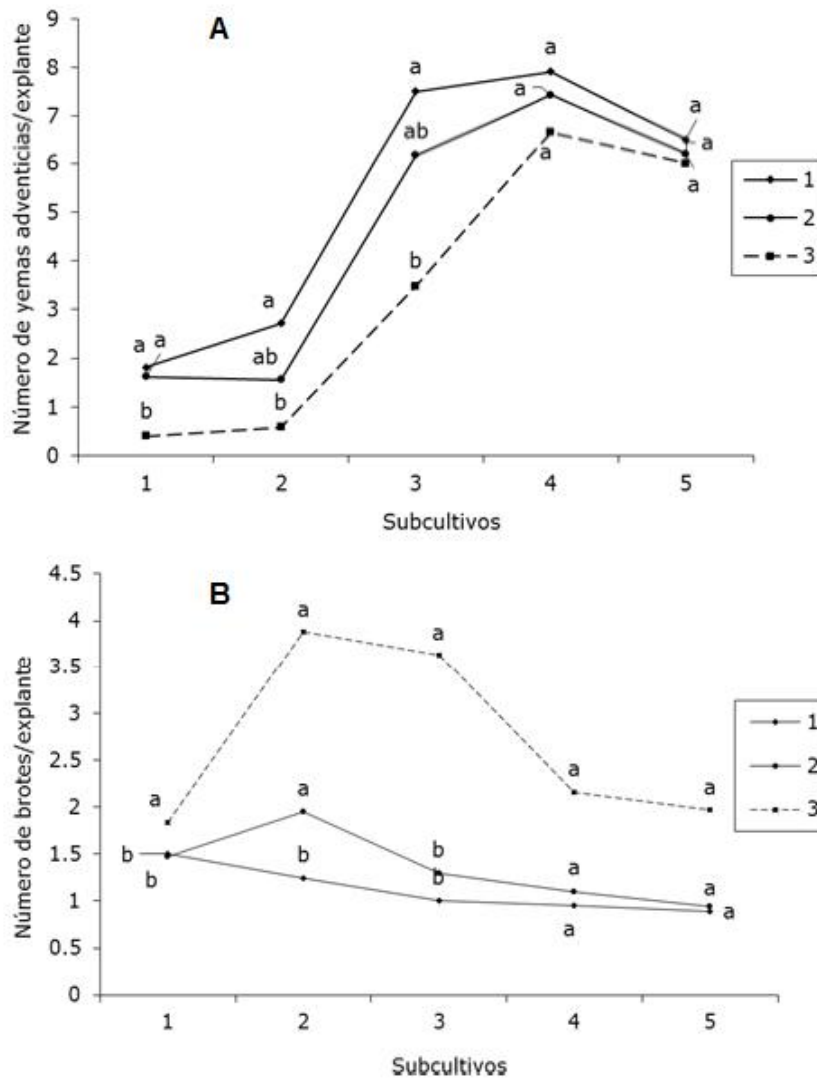
Se pudo comprobar que en el tratamiento donde se combinó 6-BAP y TDZ, el número de yemas adventicias aumentó desde el primer hasta el cuarto subcultivo (Figura 1 A). Sin embargo, la formación de brotes por explante disminuyó (Figura 1 B), lo cual resultó muy favorable teniendo en cuenta que este tipo de material vegetal por su origen unicelular, es muy útil en los programas de mejoramiento genético. Ambas citoquininas suprimieron la dominancia

apical y se favoreció la multiplicación de yemas adventicias. A partir del cuarto subcultivo los valores de estas variables no mostraron diferencias entre los tratamientos utilizados por lo que se decidió seleccionar este para aplicar cuando los objetivos de las investigaciones sean la obtención de yemas adventicias.

Resultados similares obtuvieron Liu *et al.* (2017) al estudiar la capacidad de formación de yemas adventicias de cinco cultivares de *Musa* con diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento. Estos autores, al combinar

Bencilaminopurina con tidiazuron en cuatro subcultivos, lograron los mayores porcentajes de yemas adventicias por explante.

En el caso del número de brotes por explante, en todos los subcultivos los tratamientos 1 (6-BAP (2.0 mg l⁻¹ y TDZ 1.0 mg l⁻¹) y 2 (6-BAP 22.5 mg l⁻¹) no mostraron diferencias significativas entre ellos pero sí respecto al tratamiento 3 donde se utilizó el TDZ como único regulador del crecimiento, mostrando este último los valores mayores para esta variable.



Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas para $p < 0.05$ según las pruebas H de Kruskal Wallis y U Mann Whitney

Figura 1. Efecto del número de subcultivos en la formación de yemas adventicias (A) y brotes por explante (B) 'Gros Michel' (*Musa* AAA). Tratamiento 1: 2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP - 1.0 mg l⁻¹ de TDZ, Tratamiento 2: 22.5 mg l⁻¹ de 6-BAP, Tratamiento 3: 2.0 mg l⁻¹ de TDZ.

Según los resultados de la presente investigación la multiplicación de yemas adventicias fue mayor con el empleo de la combinación de 2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP + 1.0 mg l⁻¹ de TDZ (tratamiento 1), y con 22.5 mg l⁻¹ de 6-BAP (tratamiento 2) en cuatro subcultivos con valores entre 1.5 y 8.0 yemas adventicias por explante y con una considerable reducción del número de brotes. Además, se emplearon menores concentraciones de ambos reguladores del crecimiento cuando se usaron combinados con respecto a su uso de forma individual. La utilización conjunta de ambas citoquininas indujo mayor multiplicación de las yemas adventicias, lo cual sugiere un efecto sinérgico y aditivo de ambos, siendo muy ventajoso para reducir la variación somaclonal y lograr la posterior regeneración de plantas (Sadik *et al.*, 2015).

Al respecto, Sadik (2013), refirió que el efecto negativo de emplear yemas adventicias para regenerar plantas de bananos del este de África (EA-AAA) en Programas de Mejora Genética ha estado en la necesidad de utilizar más de siete subcultivos. Estos resultados pueden atribuirse a la constitución genómica de los cultivares (el porcentaje del genoma B), la dominancia apical *in vitro* y el número de subcultivos en el medio de cultivo de multiplicación necesarios para sobreponer la dominancia apical. Cultivares con genoma BB y ABB tienen una baja dominancia y en relativamente bajas concentraciones de citoquininas pueden multiplicarse eficazmente, mientras que los cultivares AAA requieren hasta nueve subcultivos antes de que la dominancia apical se elimine (INIBAP, 1996). Teniendo en cuenta estos antecedentes, con los resultados que se obtuvieron se logró disminuir la concentración de la citoquinina y reducir el tiempo para la obtención de las yemas adventicias a cuatro subcultivos en un cultivar donde predomina el genoma acuminata, como es el caso del cv. 'Gros Michel' (AAA).

Además, es importante tener en cuenta que períodos largos de cultivo *in vitro*, con altas concentraciones de reguladores del crecimiento, puede ser una de las causas de variación somaclonal. La edad del cultivo aumenta la variabilidad entre las plantas regeneradas pues las condiciones del cultivo

in vitro y la rápida multiplicación de un tejido afecta su estabilidad genética (Leela *et al.*, 2003). Este mismo fenómeno también se ha observado tanto en plátanos como en bananos (El-Dougdoug *et al.*, 2007).

Regeneración de brotes a partir de las yemas adventicias

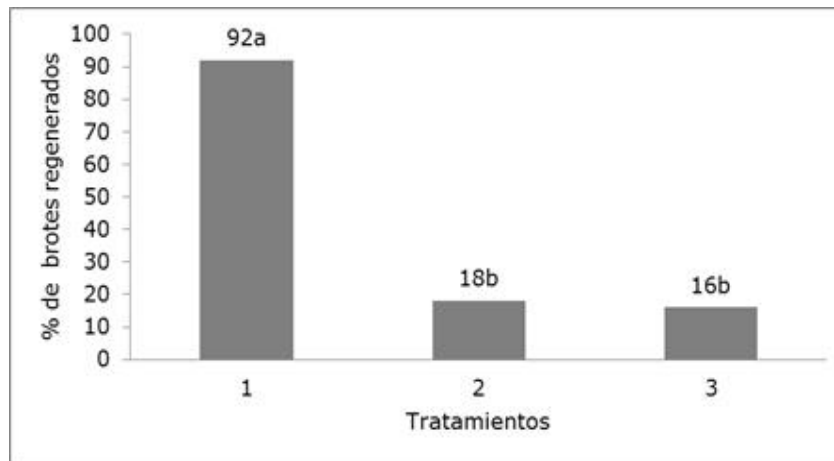
A los 30 días de cultivo más del 90% de las yemas adventicias obtenidas en el cuarto subcultivo de multiplicación, regeneraron plantas. El porcentaje de regeneración cuando se emplearon ambas citoquininas (6-BAP y TDZ) fue del 92% mientras que los tratamientos controles donde se usaron ambas por separado fue inferior (Figura 2).

Se ha demostrado que altas concentraciones del TDZ puede afectar el desarrollo de los explantes durante el enraizamiento (Wijerathna y Kumarihami *et al.*, 2016) y que altas concentraciones de 6-BAP logran bajos porcentajes de brotes regenerados (García *et al.*, 2006).

Con este resultado se demostró el uso potencial de ambos reguladores del crecimiento para la multiplicación de yemas adventicias, lo cual permite obtener en breves períodos de tiempo dichas estructuras sin afectar su posterior regeneración.

Al analizar el número de brotes por explante y el número de hojas por brote se pudo apreciar que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados. En el caso de la variable altura del brote, el tratamiento 1 (2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP + 1.0 mg l⁻¹ de TDZ) alcanzó los valores mayores con respecto a ambos controles (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Manjula *et al.* (2015) quienes demostraron que altos niveles de citoquininas y entre ellas TDZ retardan la elongación de las yemas adventicias.

En todos los tratamientos, el 100% de las plantas regeneradas presentaron altura e» 3.0 cm (desde la base del pseudotallo hasta el punto de inserción de la última hoja completamente expandida), dos o más hojas completamente desarrolladas, diámetro del pseudotallo mayor de 0.4 cm, color del follaje verde (#008000) y más de tres raíces emitidas (Figura 3).



Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas para $p \leq 0.05$ según las pruebas H de Kruskal Wallis y U Mann Whitney

Figura 2. Porcentaje de explantes que regeneraron brotes *in vitro* a partir de yemas adventicias obtenidas con la combinación de 2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP y 1.0 mg l⁻¹ de TDZ en un medio de cultivo libre de reguladores del crecimiento, a los 30 días de cultivo. Tratamiento 1: 2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP + 1.0 mg l⁻¹ de TDZ, Tratamiento 2: 22.5 mg l⁻¹ de 6-BAP, Tratamiento 3: 2.0 mg l⁻¹ de TDZ

Tabla 1. Efecto del medio de cultivo libre de reguladores del crecimiento en la altura de brotes de banano cv. 'Gros Michel' (*Musa AAA*) regenerados a partir de yemas adventicias a los 30 días de cultivo *in vitro*.

Tratamientos	Altura de los brotes regenerados (cm)/explante	
	Media real	Rango medio
1	2.48	88.69 ^a
2	1.16	70.13 ^b
3	0.99	57.37 ^c

Tratamiento 1: 2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP + 1.0 mg l⁻¹ de TDZ, Tratamiento 2: 22.5 mg l⁻¹ de 6-BAP Tratamiento 3: 2.0 mg l⁻¹ de TDZ. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas para $p \leq 0.05$ según las pruebas H de Kruskal Wallis y U de Mann Whitney.

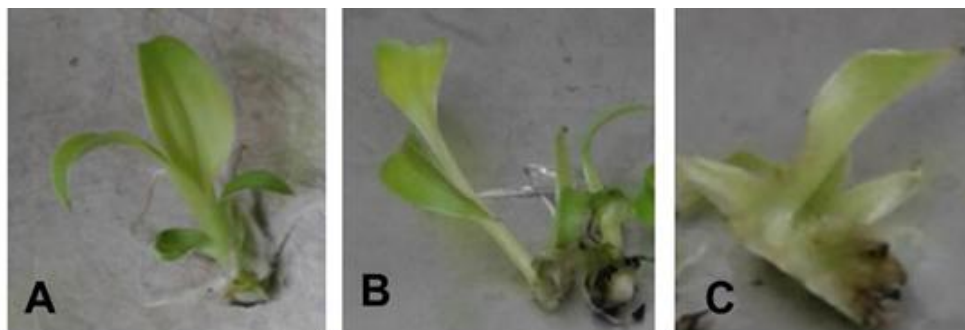


Figura 3. Plantas de banano cv. 'Gros Michel' (*Musa AAA*) regeneradas a partir de yemas adventicias en un medio de cultivo libre de reguladores del crecimiento en A) 2.0 mg l⁻¹ de 6-BAP + 1.0 mg l⁻¹ de TDZ, B) 22.5 mg l⁻¹ de 6-BAP, C) 2.0 mg l⁻¹ de TDZ

En la presente investigación en el cultivar 'Gros Michel' (*Musa* AAA) con las concentraciones de citoquininas empleadas, a pesar de ser altas en los tratamientos 2 (22.5 mg l⁻¹ de 6-BAP) y 3 (2.0 mg l⁻¹ de TDZ) no se encontraron plantas fuera de tipo. Al respecto, en la literatura científica consultada se refiere que altas concentraciones de reguladores del crecimiento inducen la regeneración de brotes fuera de tipo, pues el efecto de los reguladores del crecimiento vegetal sobre los tejidos posee un efecto aditivo (Sadik *et al.*, 2015). Por otro lado, el aumento del número de subcultivos con una elevada concentración de citoquinina produce yemas adventicias y brotes fuera de tipo en *Musa* spp. (Cedeño-García *et al.*, 2016).

Otros autores, como Bairu *et al.* (2008) al emplear altas concentraciones de 6-BAP en bananos, encontraron una inhibición del crecimiento de las yemas, lo cual provocó la aparición de plantas fuera de tipo en forma de roseta. En este aspecto hay numerosos informes los cuales muestran las diferencias de usar altos niveles de citoquininas que produce efectos negativos en la regeneración de plantas (Shirani *et al.*, 2009).

Todo lo anterior confirma que la utilización de bajas concentraciones de reguladores del crecimiento y en un menor número de subcultivos brinda mayores posibilidades para la formación de yemas adventicias, su multiplicación y posterior regeneración lo cual posibilitará su empleo en los Programas de Mejora Genética.

CONCLUSIONES

El empleo combinado de 6-BAP (2.0 mg l⁻¹) y TDZ (1.0 mg l⁻¹) durante la fase de multiplicación de yemas adventicias de banano cultivar 'Gros Michel' (*Musa* AAA) permite obtener entre 1.5 y 8 yemas adventicias por explante hasta el cuarto subcultivo de multiplicación. Además, se logra la regeneración de un 92% de los explantes, con una altura superior a 2.0 cm sin mostrar evidencias de cambios fenotípicos.

Conflicto de interés

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

Arinaitwe G, Rubaihayo PR, Magambo MJS (2000) Proliferation rate effect of cytokinins

on banana (*Musa* spp.) cultivars. *Sci Horticult* 86(1): 13-21

Bairu M, Stirk W, Dolepal K, Staden JV (2008) The role of topolins in micropropagation and somaclonal variation of banana cultivars Williams and Grand Naine (*Musa* spp. AAA). *Plant Cell Tiss Organ Cult* 95: 373-379

Bermúdez-Caraballosa I, Rodríguez Urquiza M, Jiménez AP (2017) Efecto del uso combinado de citoquininas en la formación de yemas adventicias en el cv. 'Gros Michel' (*Musa* AAA). *Biotecnología Vegetal* 17(1): 51-56

Bubici G, Kaushal M, Prigigallo MI, Gómez-Lama CC, Mercado-Blanco J (2019) Biological control agents against *Fusarium* wilt of banana. *Frontiers in Microbiology* 10(616): 1-33; doi: 10.3389/fmicb.2019.00616

Cedeño-García G, Soplín-Villacorta H, Helfgott-Lerner S, Cedeño-García G, Sotomayor-Herrera I (2016) Aplicación de biorreguladores para la Macropropagación del banano cv. Williams en cámara térmica. *Agron Mesoam* 27: 397-408

Dusunceli F (2017) Global Programme on Banana Fusarium Wilt Disease: Protecting Banana Production with Focus on Tropical Race 4 (TR4) Rome FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/3/9-17921e.pdf>. Consultado 14/04/2018

El-DougDoug KA, El-Harhi HMS, Korkar HM, Taha RM (2007) Detection of somaclonal variations in banana tissue culture using isozyme and DNA fingerprint analysis. *Journal of Applied Sciences Research* 3: 622-627

FAO (2018) FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat>. Consultado: 23/11/2018

García LR, Pérez JP, Bermúdez-Caraballosa I, Orellana P, Veitia N, García L, Padrón Y, Romero C (2006) Nuevo protocolo para la rápida inducción de yemas adventicias y la regeneración de plantas en banano cv. 'Grande naine' (*Musa* AAA). *Biotecnología Vegetal* 6(1): 15-21

INIBAP (1996) *Musa* germoplasm management. Annual Report, Networking banana and plantain, INIBAP, Montpellier

- Kulkarni VM, Ganaphati TR, Suprasanna P, Bapat VA (2007) *In vitro* mutagenesis in banana (*Musa* spp.) using Gamma irradiation. En: Jain SM, Haggman H (eds) Protocols for micropropagation of woody trees and fruits, pp. 543-559. Springer, Berlín; ISBN: 978-1-4020-6352-7
- Leela S, Jaya R, Bollama K (2003) Analyzing somaclonal variation in micropropagated bananas (*Musa* spp.). *In Vitro Cellular and Development Biology - Plant* 39: 551-556
- Liu J, Gao P, Sun X, Ahang J, Sun P, Wang J, Jia C, Ahang J, HuW, Xu B, Jin Z (2017) Efficient regeneration and genetic transformation platform applicable to five *Musa* varieties. *Electronic Journal of Biotechnology* 25(2017): 33-38; doi: 10.1016/ejbt.2016.11.002
- Manjula R, Praveen J, Sunnaiah KV, Swamy GSK, Prabhuling G (2015) Enhancement of *in vitro* shoot multiplication in banana cv. Rajapuri (AAB) using TDZ. *Research Journal of Biotechnology* 10(5): 5-10
- Murashige T, Skoog R (1962) A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497
- Nahamya P (2000) Development of Embryogenic cell suspensions for East African Highland bananas. Tesis para optar por el Grado Académico de Master en Ciencias, Makerere University, Kampala, Uganda
- Orellana P (1995) Tecnología para la micropropagación *in vitro* de clones de *Musa* spp. Tesis para aspirar por el grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, UCLV, Santa Clara, Cuba
- Sadik K (2013) Enhancement of Somatic Embryogenesis in Recalcitrant East African Highland Bananas. Tesis para optar por el Grado Académico de Doctor en Ciencias, Makerere University, Kampala, Uganda
- Sadik K, Arinaitwe G, Rubaihayo P, Mukasa S (2015) TDZ and 4-CPPU Induce Embryogenic Response on Scalps of Recalcitrant East African Highland Banana. *Journal of Agricultural Science* 7: 215-222
- Schoofs H, Panis B, Swennen R (1998) Competence of scalps for Somatic Embryogenesis in *Musa*. *Acta Hort* 490: 475-483
- Shirani S, Mahdavi F, Maziah M (2009) Morphological abnormality among regenerated shoots of banana and plantain (*Musa* spp.) after *in vitro* multiplication with TDZ and BAP from excised shoot tips. *African Journal of Biotechnology* 8(21): 5755-5761
- Sinha RK, Rani SP, Bandhu AD, Narayan JS, Sinha S (2018) *In vitro* clonal propagation of *Musa* sp. Cultivar Gopi: A palatable banana of Tripura, India. *American Journal of Plant Biology* 3(1): 12-16; doi: 10.11648/j.ajpb.2018.0301.13
- Wijerathna YM, Kumarihami HM (2016) Effects of different hormonal concentrations and culture medium on multiplication and rooting of Stage II Banana (*Musa*). *Notulae Scientia Biologicae* 8(1): 69-72; doi: 10.15835/nsb.8.1.9749

Recibido: 11-02-2019

Aceptado: 03-04-2019

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y autores.