



Comunicación corta

EFECTOS DE LA APLICACIÓN DE UN ANÁLOGO ESPIROSTÁNICO DE BRASINOESTEROIDES EN VITROPLANTAS DE BANANO (*Musa* spp.) DURANTE LA FASE DE ACLIMATIZACIÓN

Short communication

Effect of the application of a spirostanoic brassinoesteroid analog on banana (*Musa* spp.) plantlets during the acclimatization phase

Humberto Izquierdo Oviedo[✉], María C. González Cepero,
Miriam Núñez Vázquez, Ruth Proenza e Idioleidy Álvarez Bello

ABSTRACT. The acclimatization of plantlets from *in vitro* culture to *ex vitro* conditions is very important on bananas. This study was carried out at the National Institute of Agricultural Sciences and Plant-factory San Jose de las Lajas. The objective was to evaluate the effect of a brassinosteroid analog (ABr) applied during the acclimatization phase in some morpho-anatomics, physiological and cytogenetic characters in 'FHIA-18' clone vitroplants, obtained with the use of ABr consecutively on each phase of *in vitro* culture of this genotype. A mixture of organic matter and eutric compacted Red Ferralitic soil at a rate of 3:1 v/v was used as a substrate. At 45 days, survival percentage, total dry mass, soluble proteins content, stomatal density, stomatal length and the cuticle thickness was evaluated. As a result, vitroplants root immersion for 15 minutes before being planted and foliar spraying with ABr between 0.02-0.2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 15 days after planting, increased plant survival by 11 % approximately compared to the control plants and they presented bigger foliar area, dry mass and proteins content. It is informed for the first time that ABr stimulates the thickness acclimatization of the cuticle and maintains constant the chromosomes number.

RESUMEN. La aclimatización de las plantas provenientes del cultivo *in vitro*, a las condiciones *ex vitro*, es de gran importancia para los bananos. El trabajo se desarrolló en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas y en la Biofábrica de San José de las Lajas, con el objetivo de evaluar el efecto que ejerce un análogo de brasinoesteroides (ABr) aplicado durante la fase de aclimatización en algunos caracteres morfoanatómicos, fisiológicos y citogenéticos en las vitroplantas de banano del clon 'FHIA-18' cuando las mismas se obtuvieron con el empleo del ABr de forma consecutiva en todas las fase del cultivo *in vitro* de este genotipo. Se utilizó como sustrato una mezcla de materia orgánica y suelo del tipo Ferralítico Rojo compactado eútrico en una relación 3:1 v/v. A los 45 días, se evaluó el porcentaje de supervivencia, el área foliar, la masa seca total, el contenido de proteínas solubles totales, la densidad y longitud de los estomas, así como el grosor de la cutícula. Como resultado se obtuvo que la inmersión de las raíces de las vitroplantas durante 15 minutos antes de su plantación y la aspersión foliar con el ABr a concentraciones que oscilaron entre 0.02-0.2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, 15 días después de la plantación, incrementó la supervivencia de las plantas en un 11 % aproximadamente en relación con las plantas del tratamiento control; y presentaron mayor área foliar, masa seca, contenido de proteínas y se informó por primera vez que el ABr estimuló el crecimiento en grosor de la cutícula y no indujo cambios en el número de cromosomas.

Key words: cuticle, culture, plant morphology, chromosome number, biological products

Palabras clave: cutícula, cultivo, morfología vegetal, número de cromosomas, productos biológicos

M.Sc. Humberto Izquierdo, Investigador Auxiliar; Dra.C. Miriam Núñez Vázquez, Investigadora Titular y Dra.C. Idioleidy Álvarez Bello, Investigador Agregado del departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal; Dra.C. María C. González Cepero, Investigadora Titular del departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, gaveta

postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque; Ruth Proenza, Especialista de la Biofábrica Habana, carretera a Jamaica, Finca «El Llano» km 2 ½ San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32700.

[✉] hioviedo@inca.edu.cu

INTRODUCCIÓN

Una vez finalizada la propagación *in vitro* de las plántulas es imprescindible la adaptación de las mismas a las condiciones ambientales *ex vitro* no controladas, tanto en casa de cultivo como en condiciones de campo; esta fase se conoce como aclimatización. Las plantas deben adaptarse desde el punto de vista morfológico y fisiológico después de su transferencia del cultivo *in vitro* a las condiciones *ex vitro*, es decir que cambian su metabolismo heterotrófico o mixotrófico al autótrofo (1, 2).

El banano (*Musa* spp.), es uno de los cultivos de mayor consumo. Su producción mundial se estima en más de 245 400 toneladas métricas (3); sin embargo, presenta diferentes problemáticas tales como: las afectaciones por diferentes enfermedades fitopatógenas y el porte alto de las plantas sobre todo en las regiones tropicales y subtropicales, que son devastadas por los fenómenos climatológicos, como los ciclones (4, 5), entre otras. Aunque la micropropagación contribuye a solucionar algunos de los problemas anteriores, la misma también tiene sus limitantes como son: el bajo coeficiente de multiplicación, alto porcentaje de fenolización de los explantes, los niveles de ploidia cuando los subcultivos son prolongados y una baja supervivencia durante la aclimatización de las plantas, que es la fase final de cualquier protocolo de regeneración de plantas, además de la influencia del genotipo (6, 7).

Los brasinoesteroides son hormonas esteroidales de las plantas esenciales para su normal crecimiento y desarrollo (8, 9). Sin embargo, su respuesta depende de la estructura de la cadena carbonada (en el caso de los análogos), de la especie y del cultivar de planta de que se trate. En la actualidad se emplean los análogos de brasinoesteroides sintetizados en Cuba para mejorar la propagación *in vitro* y la aclimatización de los cultivos (10), ya que se consideran sustancias antiestrés (10, 11). Por lo que su empleo en todas las fases del cultivo *in vitro* y su posterior utilización en la fase de aclimatización pudiera resultar beneficioso para mejorar la supervivencia de las plantas.

Se emplean los análogos de brasinoesteroides (ABr), en una u otra fase de la micropropagación de los plátanos y bananos (10, 12); sin embargo, no se ha estudiado hasta el momento el efecto que provocan en la morfogénesis, la fisiología y anatomía de las plantas que se obtienen cuando los mismos se utilizan de forma consecutiva en todos los medios de cultivo en la fase *in vitro*, así como la influencia de la inmersión de la raíces y la posterior aspersión foliar a las plantas en las condiciones *ex vitro* y si el ABr induce o no variabilidad genética.

El trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el efecto que ejerce un análogo de brasinoesteroides (ABr) aplicado durante la fase de aclimatización en algunos caracteres morfoanatómicos, fisiológicos y citogenéticos en las vitroplantas de banano del clon 'FHIA-18' cuando las mismas se obtuvieron con el empleo del ABr de forma consecutiva en todas las fase del cultivo *in vitro* de este genotipo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas y en la Biofábrica de San José de las Lajas, provincia de Mayabeque.

Para la aclimatización se empleó como material vegetal, vitroplantas procedentes de la fase de enraizamiento *in vitro* del clon 'FHIA-18' (AAAB), que es uno de los híbridos que más se cultiva en el país. Las mismas se obtuvieron con la utilización del análogo de brasinoesteroides (ABr) en todas las fases de propagación *in vitro* (establecimiento, multiplicación y enraizamiento).

La aclimatización se realizó según la metodología establecida (13). Las vitroplantas se plantaron en bandejas de polieturano de 70 alvéolos (cepellones), que contenían un sustrato compuesto por materia orgánica (cachaza) y suelo Ferralítico Rojo compactado éutrico (14), en una proporción 3:1 v/v, al que se le garantizó el riego por nebulización en los primeros 10 días, para lograr una alta humedad relativa (95-100 %). Para el sombreado se utilizó una malla negra (70 % de reducción de luz solar). Las características químicas del sustrato se muestran en la Tabla I.

Se empleó un tratamiento control sin aplicación del ABr y tres tratamientos en los que se realizó la inmersión de las raíces de las vitroplantas en el ABr (masa molar es de 446,606 g.mol⁻¹) y 15 días después de la plantación se asperjaron con el análogo a las concentraciones de 0.02; 0.1 y 0.2 μmol.L⁻¹; la aspersión se realizó a razón de 2 mL por vitroplanta.

A los 45 días, se evaluó: el porcentaje de supervivencia (35 plantas), el área foliar (20 plantas) la masa seca total (cinco plantas) y el contenido de proteínas solubles totales (cinco plantas) (15).

Para el estudio anatómico se tomó la última hoja completamente extendida (de la base del pseudotallo hacia el ápice) y de la zona central (sin incluir la nervadura) se cortó una porción de 1 cm² aproximadamente y se les realizaron cortes transversales a mano alzada con una cuchilla de afeitar ASTRA. Todo el procedimiento se realizó según lo informado en la literatura (16, 17).

Tabla I. Características químicas del sustrato empleado para la aclimatización de vitroplantas de banano (*Musa* spp.) del clon 'FHIA-18' (AAAB)

Sustrato	pH	MO	P	K	Ca	Mg	Na
	H ₂ O	(%)	(ppm)		cmol.kg ⁻¹		
Cachaza: suelo (3:1)	7.3	13.13	2800	4.85	29.2	8.30	0.48

La densidad estomática se determinó en cinco plantas, para lo cual se contó la cantidad de estomas por ambas superficies foliares (adaxial y abaxial), el conteo se realizó a través del ocular micrométrico del microscopio que tenía un aumento de 40 x, la longitud de los estomas y el grosor de la cutícula, se midieron de forma similar a la anterior. En todos los casos se realizaron 25 mediciones.

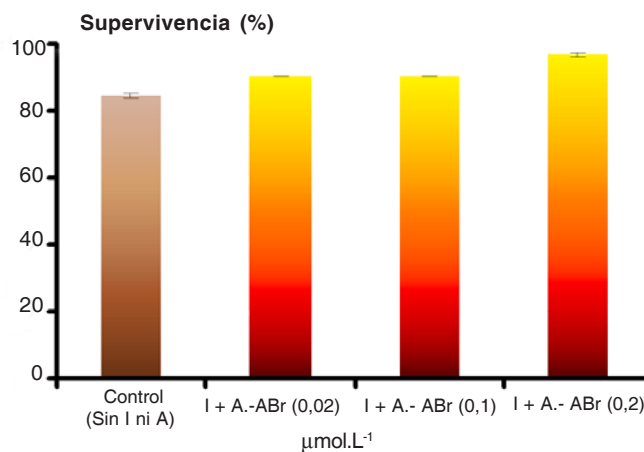
Para el estudio del cariotipo se utilizaron raíces de aproximadamente un centímetro de longitud y se siguió el procedimiento descrito por Román (18). Se realizó el conteo de los cromosomas a cinco plantas por tratamiento y se contaron 25 células por planta al inicio (cero días) y final (45 días) de la aclimatización, para lo cual se empleó un microscopio óptico *Olympus* con cámara fotográfica *Canon* acoplada. Las mejores metafases se fotografiaron con un objetivo de 100 x y la lente de la cámara con un ocular de 10 x.

En el experimento se empleó un diseño completamente aleatorizado, se repitió dos veces y se utilizó en cada caso, como dato primario, la media de ambas repeticiones para cada tratamiento experimental. El porcentaje de supervivencia se estudió a través del análisis de las diferencias entre proporciones, para el resto de las variables se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple para el análisis de los datos y las medias se compararon según la Prueba de Tukey al 95 %. Para el procesamiento de los mismos se utilizó el paquete estadístico *STATGRAPHICS Plus* versión 5.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de sobrevivencia es un indicador muy importante en la fase de aclimatización, pues de él depende la cantidad de plantas que pueden llevarse a vivero y posteriormente al campo. La Figura 1 muestra los resultados: como se puede apreciar las plantas del tratamiento 4 [I + A.- ABr (0.2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)] alcanzaron los mejores resultados, ya que incrementaron su supervivencia en 11 % (96.65 %) aproximadamente en relación con las plantas del tratamiento control.

En la aclimatización de plantas de papaya (*Carica papaya* cv. 'Maradol roja') se obtuvo una supervivencia entre 80-82 % (19); en *Tuberaria major* (Willk.), que es una planta que se encuentra cerca de las costas de Portugal, se obtuvo un 97 % de supervivencia seis semanas después del trasplante (20); se informó más de un 90 % de supervivencia de las plantas de genotipo de plátano 'Baxi Xiangjiao' (grupo AAA) durante la fase de aclimatización (21); así mismo, se alcanzaron buenos resultados en la aclimatización de plántulas de banano del clon Gran Enano (22). También puede existir una activación de la biosíntesis de los brasinoesteroides cuando se aplican exógenamente en las plantas e influyen en la supervivencia de las mismas y por consiguiente en su crecimiento y desarrollo.



+A.- Inmersión de las raíces 15 minutos + aspersion foliar de las plantas 15 días después de la plantación
 ABr.- Análogo de brasinoesteroides
 n.- Número de plantas que se evaluaron
 Se presenta la media de cada tratamiento y las barras representan el intervalo de confianza ($\alpha \leq 0.05$)

Figura 1. Supervivencia de las plantas de banano (*Musa* spp.) del clon 'FHIA-18' (AAAB) con el empleo del ABr durante la fase de aclimatización (n=35)

Hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos en cuanto al área foliar, la masa seca y el contenido de proteínas solubles totales (Tabla II), excepto entre los tratamientos 1 y 2 en el área foliar.

Como se puede apreciar en la tabla el área foliar osciló entre 3.06-3.54 cm^2 y los mejores resultados los obtuvieron las plantas del tratamiento cuatro [ABr (0.2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)], al igual que en el caso de la masa seca y el contenido de proteínas. Otros autores también informan que han alcanzado buenos resultados cuando han evaluado estos y otros parámetros morfológicos, fisiológicos y bioquímicos con la utilización de un análogo de brasinoesteroides en la fase *in vitro* y la posterior evaluación de su efecto residual en la fase de aclimatización en un clon de plátano macho (23), así mismo también han informado buenos resultados cuando utilizan los brasinoesteroides (24, 25), ya que atenúan el estrés tanto biótico como abiótico.

La utilización de este nuevo regulador del crecimiento (ABr) en todas las fases del cultivo *in vitro* (establecimiento, multiplicación y enraizamiento) y con posterioridad en la fase *ex vitro*, sugiere que las plántulas acumularon mayor biomasa durante la fase *in vitro*, que las condicionó favorablemente para sobrevivir al estrés provocado por el cambio a las condiciones *ex vitro*, lo que coincide también con lo informado otros autores (7), que plantean que el éxito de la aclimatización en los plátanos, depende de que las plantas puedan pasar de las condiciones heterotróficas o mixotróficas (mezcla de autotróficas con heterotróficas) al autotrofismo, proceso que está relacionado con las reservas que obtienen las plántulas durante la fase *in vitro*.

Los resultados que se relacionan con la densidad estomática, longitud de los estomas y grosor de la cutícula se presentan en la Tabla III. Como se puede observar no hubo diferencias significativas en cuanto a la densidad y longitud de los estomas entre las plantas de los diferentes tratamientos; sin embargo, sí hubo diferencias estadísticas en el grosor de la cutícula entre las plantas de los diferentes tratamientos.

El agua es la sustancia más abundante en los tejidos vegetales. Sin embargo, las partes aéreas de las plantas presentan una mala economía de la misma, ya que del total de agua que absorben por la raíz (100 %) retienen una pequeña porción, que la emplean fundamentalmente en la fotosíntesis (1-2 %) y pierden en forma de vapor por la transpiración entre el 98-99 % del total (26). La cutícula cubre las células epidérmicas, formando un límite entre la planta y su ambiente exterior; representa una barrera primaria, que minimiza la pérdida de agua y de solutos y, protege la planta contra el estrés biótico y abiótico, pero también puede actuar en varios procesos que se relacionan con la delimitación de órganos, la formación de tricomas y estomas (27). El incremento de la resistencia a *Botrytis cinerea* (Pers.) en plantas mutantes de *Arabidopsis* se relacionó con el crecimiento de la cutícula (28, 29).

En estudios de campo en que se utilizaron los híbridos 'FHIA-01', 'FHIA-02' y 'FHIA-03' el grosor de la cutícula por la cara adaxial osciló entre 2,38-2,81 mm, el grosor de la epidermis adaxial, osciló entre 10,92-

12,45 mm (30). Si se considera que el hongo causante de la sigatoka penetra principalmente vía estomática, una baja densidad de los mismos como la presentan los híbridos FHIA, así como un mayor grosor de la cutícula en etapas tempranas del crecimiento de las plantas (fase de aclimatización) podrían considerarse factores de gran importancia y pudieran ser entre otros, los responsables del mayor grado de resistencia a la enfermedad presentado por los mismos.

La densidad estomática, que es de 1:3 en la relación ADA/ABA y la longitud de los estomas es superior en la cara ABA en relación con la ADA (31). Las hojas son anfiestomáticas, al igual que las de *Ocimum basilicum* (18). Estos caracteres están fijados genéticamente en las diferentes especies y por lo general no varían, por lo que es una característica deseable en la propagación de este genotipo de banano con el empleo de ABr.

Relacionado con el análisis del cariotipo se mantuvo constante el número de cromosomas $2n=4x=44$ (tetraploides) (Figura 2).

En *Passiflora cincinnata* Mast. durante el proceso de embriogénesis somática (32) y en el mantenimiento *in vitro* de líneas de germoplasma de *Scutellaria baicalensis* Georgi (Huangqin) (33), mostraron que en todos los casos se mantuvo constante el número de cromosomas. Así mismo, Román (18), no encontró variabilidad en el número de cromosomas al caracterizar genotipos diploides, triploides y tetraploides de plátanos y bananos.

Tabla II. Área foliar, masa seca total y contenido de proteínas solubles totales de las plantas de banano (*Musa spp.*) del clon 'FHIA-18' (AAAB) durante la fase de aclimatización con el empleo del ABr (n=5)

Tratamientos ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Área foliar total (cm^2)	Masa seca total (g)	Contenido de proteínas solubles totales (mg.g MF^{-1})
1.- Control (sin I+A)	3.06 ^c	0.1064 ^d	1212.68 ^c
2.- I + A. - ABr (0.02 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	3.07 ^c	0.1326 ^c	1551.32 ^d
3.- I + A. - ABr (0.1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	3.32 ^b	0.1500 ^b	1611.46 ^b
4.- I + A. - ABr (0.2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	3.54 ^a	0.1808 ^a	1991.55 ^a
EEx	0.09	0.0244	0.87
CV (%)	0.54	0.18	2.35

Tabla III. Densidad y longitud de los estomas y grosor de la cutícula por la cara adaxial (ADA) así como por la abaxial (ABA) de las plantas de banano (*Musa spp.*) del clon 'FHIA-18' (AAAB) durante la fase de aclimatización con el empleo del ABr (n=25)

Tratamientos	Densidad estomática (mm^2)		Longitud de los estomas (μm)		Grosor de la cutícula (μm)	
	ADA	ABA	ADA	ABA	ADA	ABA
1. Control (sin I+A)	1.39	3.58	23.40	29.29	0.90	0.91
2. I + A. - ABr (0.02 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	1.38	3.57	23.38	29.28	0.95	0.96
3. I + A. - ABr (0.1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	1.36	3.52	23.38	29.27	0.98	1.00
4. I + A. - ABr (0.2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	1.35	3.50	23.35	29.21	1.05	1.07
EEx	0.018 ns	0.051 ns	0.033 ns	0.046 ns	0.002	0.003
CV (%)	0.62	0.98	1.79	1.94	0.91	0.97

I + A.- Inmersión de las raíces 15 minutos + aspersión foliar de las plantas 15 días después de la plantación

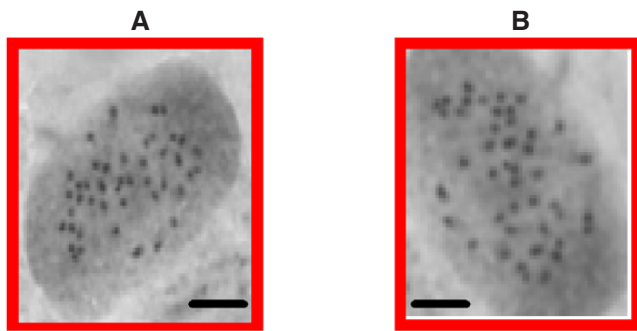
ABr.- Análogo de brasinoesteroides

n.- Número de mediciones que se realizaron

EEx.- Error estándar de la media

CV.- Coeficiente de variación

Las medias con letras diferentes presentan significación estadística, según la prueba de Tukey (0.05)



La barra representa 25 μm (1000 x)
n.- Número de mediciones que se realizaron

Figura 2. Número de cromosomas de las plantas de banano (*Musa* spp.) del clon 'FHIA-18' (AAAB) con el empleo del ABr al inicio (A) y final (B) de la fase de aclimatización (n=25)

Los resultados de este trabajo muestran que el ABr no provocó cambios en el número de cromosomas de las plantas de banano del clon 'FHIA-18' en la fase de aclimatización mediante la inmersión de las raíces y la posterior aspersión foliar a las plantas; y el mismo pudo contribuir a mejorar los procesos de transporte y absorción de nutrientes por la planta, por lo que esta sustancia además de ejercer un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo, interviene en el engrosamiento de la cutícula sin cambios en el número de cromosomas.

La importancia de estos resultados consiste en que facilitan los estudios del número cromosómico en el género *Musa*, aspecto de gran significación para su caracterización y como método para evaluar el comportamiento de la estabilidad y variabilidad genética en cuanto al número cromosómico en plantas de esta especie regeneradas por vías tradicionales y biotecnológicas cuando se utiliza un nuevo regulador del crecimiento vegetal como el análogo de brasinoesteroides.

REFERENCIAS

- Rodríguez, A.; Posada-Pérez, L.; Gómez, R.; Reyes, M. y Tejeda, M. Aclimatización de plantas de *Carica papaya* var. 'Maradol roja' obtenidas por embriogénesis somática. *Biotechnología Vegetal*, 2009, vol. 9, no. 2, p. 91-97.
- Chacón, A. G.; Gómez, L.; Torres, S. y Saborío, F. Aclimatización de plántulas de yampi (*Dioscorea trifida*) y ñame (*D. alata*) producidas *in vitro*. *Agronomía Costarricense*, 2005, vol. 29, no. 3, p. 47-58.
- FAOSTAT. 2010. <<http://apps.fao.org/cgi-bin/nph-db.pl?Subset=agriculture>>. Fecha de Consulta: 2 de febrero del 2011.
- Pérez, J. Enfermedades de banano y plátano: Análisis retrospectivo y perspectivas. *Producción Agropecuaria*, 2009, vol. 2, no. 1, p. 11-18.
- Orellana, P.; Bermúdez, I.; García, L. y Veitía, N. Evaluation of the agronomic characteristics of plantain hybrids (*Musa* spp.). *InfoMusa*, 2002, vol. 11, no. 1, p. 34-35.
- Azofeifa, A. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agron. Mesoam.*, 2009, vol. 20, no. 1, p. 153-175.
- Aragón, C.; Carvalho, L.; González, J.; Escalona, M. y Amancio, S. *Ex vitro* acclimatization of plantain plantlets micropropagated in temporary immersion bioreactor. *Biol. Plantarum*, 2010, vol. 54, no. 2, p. 237-244.
- Bellarmino, A. Genes involved in brassinosteroids's metabolism and signal transduction pathways. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2007, vol. 50, no. 4, p. 605-618.
- Ali, B.; Hayat, S.; Fariduddin, Q. y Ahmad, A. 24-Epibrassinolide protects against the stress generated by salinity and nickel in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 2008, vol. 72, p. 1387-1392.
- GonzálezOlmedo, J. L.; Córdova A.; Aragón, C. E.; Pina, D.; Rivas, M. y Rodríguez, R. Effect of an analogue of brassinosteroid on FHIA-18 plantlets exposed to thermal stress. *InfoMusa*, 2005, vol. 14, no. 1, p. 18-20.
- Li, J. y Jin, H. Regulation of brassinosteroid signalling. *Trends Plant Sci.*, 2007, vol. 12, p. 37-41.
- Héctor, E.; Torres, A.; Algoe, S.; Cabañas, M. y López, A. Propagación *in vitro* del plátano macho (*Musa* sp. AAB) clon 'Sobriño' con los bioestimulantes cubanos BB-6 y Biostan como sustitutos de los reguladores del crecimiento. *Cult. Trop.*, 2007, vol. 28, no. 1, p. 13-18.
- Anon, J. Fase IV. Adaptación o aclimatización a las condiciones ambientales. pp. 18-20. En: Instructivo técnico para la micropropagación de plátanos y bananos. Capítulo 8. Empresa de semillas, La Habana, Cuba, 2003, p. 3-9.
- Cuba. MINAG. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. La Habana. Agrinfor, 1999, 64 p.
- Kumar, N.; Krishnamoorthy, V.; Nalina, L. y Soorianathasundhareom, K. Nuevo factor para estimar el área foliar total en banano. *Infomusa*, 2002, vol. 11, no. 2, p. 42-43.
- Vidal, M. del C.; Vargas, T. E. y García, E. Estudios anatómicos y morfológicos de la iniciación de embriones somáticos obtenidos a partir de ápices meristemáticos de *Musa* sp. *Acta Científica Venezolana*, 2000, vol. 51, p. 78-83.
- Sam, O.; de la Luz, M. y Barroso, L. Caracterización anatómica de las hojas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 2, p. 39-42.
- Román, M. I. Estudio de la diversidad genética en accesiones de bananos y plátanos (*Musa* spp.) en Cuba. [Tesis de doctorado]. Facultad de Biología. UH, 2004, 127 p.
- Rodríguez, A.; Posada-Pérez, L.; Gómez, R.; Reyes, M. y Tejeda, M. Aclimatización de plantas de *Carica papaya* var. 'Maradol roja' obtenidas por embriogénesis somática. *Biotec. Veg.*, 2009, vol. 9, no. 2, p. 91-97.
- Goncalves, S.; Fernandes, L. y Romano, A. High-frequency *in vitro* propagation of the endangered species *Tuberaria major*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 2010, vol. 101, p. 359-363.
- Wu, Y.; Ganjun, Y.; Yang, H.; Zhou, B. y Zeng, J. Basal medium with modified nitrogen source and other factors influence the rooting of banana. *HortScience*, 2005, vol. 40, no. 2, p. 45-48.

22. Scaranari, C.; Martins, P. A. y Mazzafera, P. Shading and periods of acclimatization of micropropagated banana plantlets cv. Grande Naine. *Sci. Agric.*, 2009, vol. 66, p. 331-337.
23. Héctor, E.; Torres, A.; Algae, S.; Cabañas, M. y López, A. Propagación *in vitro* del plátano macho (*Musa* sp. AAB) clon 'Sobrino' con los bioestimulantes cubanos BB-6 y Biostan como sustituto de los reguladores del crecimiento. *Cultivos Tropicales*, 2007, vol. 28, no. 1, p. 13-18.
24. Bajguz, A. y Hayat, S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, vol. 47, p. 1-8.
25. Kagale, S.; Divi, U. K.; Krochko, J. E.; Keller, W. A. y Krishna, P. Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses *Planta*, 2007, vol. 225, p. 353-364.
26. Turner, D. W.; Fortescue, J. A. y Thomas, D. S. Environmental physiology of the bananas (*Musa* spp.). *Braz. J. Plant Physiol.*, 2007, vol. 19, no. 4, p. 463-484.
27. Riederer, M. Introduction: biology of the plant cuticle. *En: Biology of the plant cuticle*. Müller, R. M. (Ed.). Oxford, UK : Blackwell Publishing, 2006, p. 1-10.
28. Bessire, M.; Chassot, C.; Jacquat, A. C.; Humphry, M.; Borel, S.; MacDonald, Comber, J.; Métraux, J. P. y Nawrath, C. A permeable cuticle in *Arabidopsis* leads to a strong resistance to *Botrytis cinerea*. *EMBO J.*, 2007, vol. 26, p. 2158-2168.
29. Chassot, C.; Nawrath, C. y Métraux, J. P. Cuticular defects lead to full immunity to a major plant pathogen. *Plant J.*, 2007, vol. 49, p. 972-980.
30. Valerio, R.; Lindorf, H. y García, E. Anatomía foliar comparada de ocho cultivares de banano con relación a la resistencia o susceptibilidad a la Sigatoka (amarilla y negra). *Agron. Trop.*, 2002, vol. 52, no. 4, p. 507-522.
31. Sandoval, J. A. y Miller, L. Anatomía y morfología de la planta de banano (*Musa* AAA). *CORBANA*, 1999, vol. 24, no. 51, p. 43-60.
32. Lopes, D.; de Almeida, B.; Facio, L.; Salabert, J. M.; Lemes, M. y Campos, W. Ploidy stability of somatic embryogenesis-derived *Passiflora cincinnata* Mast. plants as assessed by flow cytometry. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 2010, vol. 103, p. 71-79.
33. Alan, A. R.; Zeng, H.; Assani, A.; Shi, W. I.; Mcrae, H. E.; Murch, S. J. y Saxena, P. K. Assessment of genetic stability of the germplasm lines of medicinal plant *Scutellaria baicalensis* Georgi (Huangqin) in long-term, *in vitro* maintained cultures. *Plant Cell Rep.*, 2007, vol. 26, p. 1345-1355.

Recibido: 26 de septiembre de 2010

Aceptado: 17 de febrero de 2012

¿Cómo citar?

Izquierdo Oviedo, Humberto; González Cepero, María C.; Núñez Vázquez, Miriam; Proenza, Ruth y Alvarez Bello, Idioleidy. Efectos de la aplicación de un análogo espiroestano de brasinoesteroides en vitroplantas de banano (*Musa* spp.) durante la fase de aclimatización. *Cultivos Tropicales*, 2012, vol. 33, no. 1, p. 71-76. ISSN 1819-4087