

08

EFFECTOS DE MÉTODOS DE DESINFECCIÓN EX VITRO-IN VITRO EN ÁPICES MERISTEMÁTICOS DE PLÁTANO CLON DOMINICO

EFFECTS OF EX VITRO-IN VITRO DISINFECTION METHODS ON MERISTEMATIC TIPS OF PLANTAIN CLONE DOMINICO

Kevin Andres Lima Morales¹

E-mail: klima1@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2355-3604>

Alexander Moreno Herrera¹

E-mail: amoreno@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8898-4195>

Irán Rodríguez Delgado¹

E-mail: irodriguez@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6453-2108>

¹Universidad Técnica de Machala. Ecuador.

Cita sugerida (APA, séptima edición)

Lima Morales, K. A., Moreno Herrera, A., Rodríguez Delgado, I. (2023). Efectos de métodos de desinfección ex vitro-in vitro en ápices meristemáticos de plátano clon Dominic. *Revista Científica Agroecosistemas*, 11(3), 61-67. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>

RESUMEN

El plátano clon Dominic (*Musa x paradisiaca*), es un monocultivo esencial para alimentación local, con limitantes de susceptibilidad a plagas y patógenos que afectan su producción a mediano y largo plazo que la disponibilidad de material vegetal de calidad. El objetivo del estudio fue determinar la respuesta de ápices meristemáticos de plátano clon Dominic expuestos a métodos de desinfección *ex vitro-in vitro* que permitan mejorar la calidad y su sobrevivencia en condiciones *in vitro*. Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con total de doce tratamientos combinando la desinfección *ex vitro* e *in vitro*, y empleo de antibióticos (Cloranfenicol, tebuconazol y Azoxystrobin) para un total de 60 yemas axilares tipo espada de 40–50 cm de altura de los cuales se extrajeron los ápices meristemáticos, evaluándose la respuesta de ápices, la contaminación (bacteriana y fúngica), fenolización y la actividad e inactividad. La mejor respuesta de sobrevivencia de los ápices meristemáticos fue la desinfección con fungicida y bactericida *ex vitro-in vitro* y fungicida y bactericida *ex vitro*-fungicida *in vitro*. Sin antibióticos *ex vitro*-bactericida *in vitro* producto a su capacidad de regeneración al tener dominancia apical a los 28 días que muestra una mejor calidad del ápice. La calidad en la coloración y la proliferación de la dominancia apical sin desinfección *ex vitro*-bactericida *in vitro* demuestra ser el mejor proceso de desinfección para la fase de establecimiento *in vitro*.

Palabras clave:

Establecimiento, plátano, desinfección, *ex vitro*, *in vitro*.

ABSTRACT

The Dominican clone plantain (*Musa x paradisiaca*) is an essential monoculture for local food, with susceptibility limitations to pests and pathogens that affect its production in the medium and long term than the availability of quality plant material. The objective of the study was to determine the response of meristematic tips of plantain clone Dominic exposed to ex vitro-in vitro disinfection methods that allow improving the quality and their survival under in vitro conditions. A Completely Random Design (DCA) was used with a total of twelve treatments combining ex vitro and in vitro disinfection, and use of antibiotics (Chloramphenicol, Tebuconazole and Azoxystrobin) for a total of 60 sword-type axillary buds of 40–50 cm in diameter. height from which the meristematic apices were extracted, evaluating the response of apices, contamination (bacterial and fungal), phenolization and activity and inactivity. The best survival response of the meristematic apices was disinfection with fungicide and bactericide ex vitro-in vitro and fungicide and bactericide ex vitro-fungicide in vitro. Without antibiotics ex vitro-bactericidal in vitro due to its regeneration capacity by having apical dominance at 28 days, which shows a better quality of the apex. The quality in the coloration and the proliferation of the apical dominance without ex vitro-bactericidal disinfection in vitro proves to be the best disinfection process for the in vitro establishment phase.

Keywords:

Establishment, banana, disinfection, *ex vitro*, *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

El plátano clon Dominicó (*Musa x paradisiaca*) es un híbrido triploide (AAB) del Subgrupo Plantain, que proviene del cruce entre *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*, es de gran interés en el ámbito alimentario, social y económico, determinándose su origen de regiones del Sudeste de Asiático (Velasco & Abasolo, 2019). La producción mundial de plátano en 2020 alcanzó un valor de 45 millones de toneladas métricas en el mundo (FAOSTAT, 2022). En Ecuador la superficie plantada es de 82.341 ha como monocultivo y 101.258 ha en asociación, ambas repartidas entre pequeños y medianos productores, que representa el 9,3% en la producción de cultivos permanentes ubicadas en la provincia de Manabí, Guayas y El Oro, las cuales conforman más del 90% de la producción de plátano, reporta 317.523 t y 171293 t cosechadas con un rendimiento de 3,85 tha^{-1} y 1,69 tha^{-1} , bajo a comparación del rendimiento aproximado de 10 tha^{-1} en el resto de países (INEC, 2022; Fernández et al., 2021).

En este contexto se evidencian factores que limitan su rendimiento directamente como: factores atmosféricos, manejo fitosanitario (alta incidencia de plagas y enfermedades) además del factor económico (Martínez, 2009), entre las principales plagas se encuentran el picudo negro (*Cosmopolites sordidus* Germar), nematodos (*Helicotylenchus* sp. Pratylenchus sp. y *Meloidogyne* sp.), y en menor medida áfidos (*Pentalonia nigronervosa*) y chinche harinosa o cochinilla (*Dysmicoccus texensis*), las enfermedades que presentan son de tipo bacteriosis como la pudrición acuosa (*Erwinia* sp.) y moko (*Ralstonia solanacearum* Raza 2), virosis como el Virus del Mosaico del Pepino (CMV) y el Virus del Estriado del Banano (BSV), además de fúngicas como Marchites por fusarium (*Fusarium oxysporum* cubense Raza 4 Tropical) y la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) debido a esto es necesario proporcionar plantas sanas, homogéneas y con vigor genético (Fernández et al., 2021).

Estos requerimientos de material vegetal son cubiertos mediante el cultivo *in vitro*, que permite el aislamiento de un fragmento de material vegetal (explante: órgano, tejido o células) para ser cultivadas en un medio nutricional artificial y aséptico, se relaciona con el volumen de producción que se desea a partir de una planta donante. Requiriéndose especialmente la propagación de plantas que muestran dificultad para reproducirse de forma vegetativa con el fin abastecer la demanda de material vegetal (mediante yemas axilares o rizomas) para plantar, como el plátano clon Dominicó (Velasco, 2019). Dentro de este proceso *in vitro* la primera fase de establecimiento (transición *ex vitro* a *in vitro*) requiere un manejo estricto para evitar la pérdida del explante, así como la contaminación del medio de cultivo causado por microorganismos presentes en las células vegetales, que no se puede eliminar mediante la desinfección externa, la fenolización o la inactividad del explante (Arbeláez et al., 2016).

La utilización de estrategias para disminuir la pérdida del explante es el uso eficiente de agentes antioxidantes y

antibióticos (Sanes, 2002). Una vez establecido este material vegetal *in vitro* para producción, además permite enfocarse en la conservación de la especie en un banco de germoplasma de cultivares a nivel local (Scocchi y Rey, 2010). El objetivo del estudio fue determinar la respuesta de ápices meristemáticos de plátano clon Dominicó expuestos a métodos de desinfección *ex vitro-in vitro* que permitan mejorar la calidad y su sobrevivencia en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área de estudio

Las plantas plátano donantes utilizadas en el presente trabajo de investigación son provenientes del cantón El Guabo sector "Las Casitas" de la provincia de El Oro. Las yemas de plátano son establecidas directamente una vez se extraen del campo hacia laboratorio de Micropropagación Vegetal, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala.

Establecimiento de material vegetal

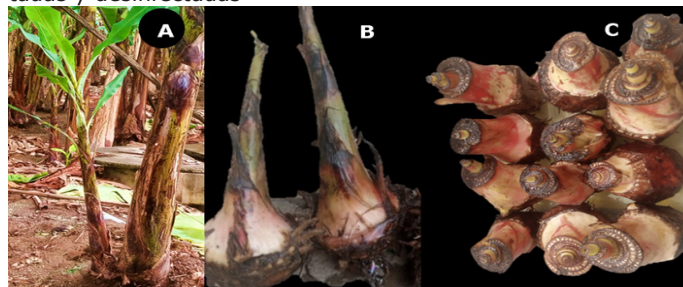
Procedimiento del establecimiento *in vitro* de plátano clon Dominicó:

1. Selección y extracción de yemas axilares con características óptimas
2. Desinfección del material vegetal (desinfección estándar y experimental)
3. Preparación del medio de cultivo
4. Establecimiento de las yemas

Selección y extracción

Las yemas axilares de plátano extraídas de campo fueron de tipo espada y con una altura aproximada de 50 cm de alto (Figura 1A), son separadas de la planta madre (Figura 1B) y de sus raíces de anclaje para ser lavadas en una solución de detergente y posterior ser enjuagadas a chorro continuo.

Figura 1: (A) Planta de plátano clon Dominicó (B) Yemas axilares de plátanos seleccionados y extraídos (C) Yemas decapitadas y desinfectadas



Proceso de desinfección

Las yemas axilares se decapitaron a 20 cm de la base de cormo, luego se desinfectaron con formol al 0,1 % (v/v) durante 3 min (Figura 1C). Después se sumergieron

en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO al 1%) y tween 20 (1 gl⁻¹) durante 24 h. Posteriormente los explantes se reducen a una altura o calibre determinado de 10 cm de alto para ser sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO al 3%) durante 20 minutos en constante agitación. Posteriormente se cortan las capas exteriores afectadas por el NaClO, hasta una altura 5 cm (2,5 cm de pseudotallo y 2,5 cm de cormo), nuevamente se sumergen nuevamente en otra solución de hipoclorito de sodio (NaClO al 3%) durante 20 minutos para realizar el último corte antes de la siembra.

Desinfección experimental

En la siguiente Tabla 1 se describe las desinfecciones experimentales que se lleva a cabo antes de sumergir por segunda ocasión los explantes en NaClO al 3%.

Tabla 1: Diferentes formas de desinfección de explantes

Procedimiento	Descripción	Cantidad (ml l ⁻¹)
Desinfección (F0BO)	Desinfección con NaClO (3%)	-
Desinfección (B)	Desinfección con NaClO (3%) + Cloranfenicol	0,5
Desinfección (FB)	Desinfección con NaClO (3%) + Cloranfenicol + (Tebuconazole y Azoxystrobin)	0,5

Fuente: Elaboración propia

Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo utilizado fue el (MS) de Murashige y Skoog descrito en 1962, suplementado con 30 gl⁻¹ de sacarosa, 0,1 gl⁻¹ ácido ascórbico, 4 mg l⁻¹ de L-cisteína, 1 gl⁻¹ de carbón activado. Además de adicionar antibiótico (fungicida: Tebuconazol y azoxystrobin, bactericida: Cloranfenicol) de acuerdo a medio de cultivo (Tabla 2), el pH se ajustó a 5,8 y se dispensó en cada frasco de siembra 30 ml cada uno. Posteriormente se autoclavó a 121 °C (15 psi) durante 24 minutos y se almacenó en el área de medios de cultivo.

Tabla 2: Componentes del medio de cultivo MS para establecimiento con antioxidantes, antibiótico y fungicida

Diseño experimental

Fuente: Elaboración propia

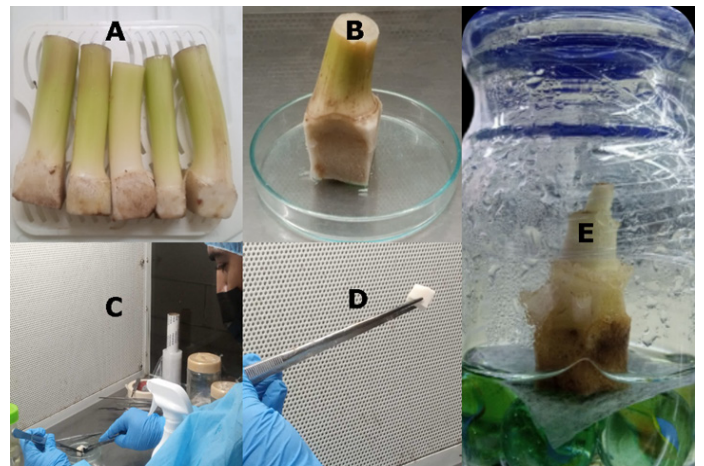
Tabla 3: Descripción del proceso de desinfección en establecimiento de yemas axilares.

F0B0 desinfección sin fungicida ni bactericida; **F0B** es desinfección solo con bactericida; **FBO** desinfección solo con fungicida; **FB** desinfección con fungicida y bactericida; **(E)** refiere al procedimiento *ex vitro*; y la tetra **(I)** es el procedimiento *in vitro*.

iv) Establecimiento de yemas axilares

El último corte de las yemas axilares o en este punto también denominados ápices meristemáticos es a una altura final de 1 cm x 1 cm, con dimensiones del largo por el ancho en el punto meristemático caulinar apical, que posteriormente se sumergen en una solución de L-cisteína para evitar la oxidación inmediata del explante, luego se colocan en los frascos luego de ser enjuagado en agua destilada estéril para ser sellada herméticamente con rollo stretch y almacenada en cuarto oscuro durante 92 h. Posterior a esto se trasladó al cuarto de crecimiento con luz artificial y natural, donde cumplió un fotoperiodo de 16 h luz, además de mantener una temperatura promedio de 25 °C y humedad relativa promedio de 70 % durante un ciclo de 21 días.

Figura 3: (A) Explantes o yemas axilares previas al proceso de desinfección (B) explantes posterior a la desinfección (C) corte final de explantes o ápices meristemáticos (1 cm x 1 cm) (D) siembra de ápices en medios de cultivo MS (E) estado de ápices luego de siete días desde el establecimiento



Procedimiento estadístico

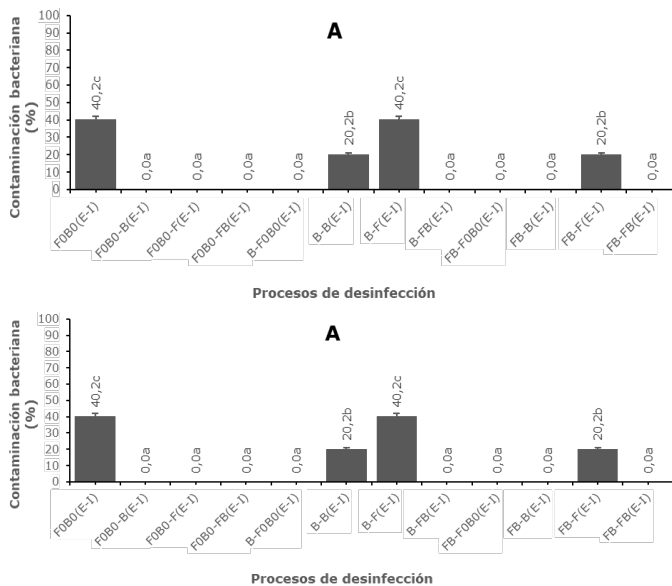
El diseño experimental que se empleó fue el Diseño Completamente al Azar (DCA) con doce tratamientos de desinfección y cinco unidades experimentales, confirmando un total de 60 unidades experimentales, las unidades experimentales fueron frascos de vidrio de 100 ml de capacidad graduados de tapa azul en donde se colocaron los ápices meristemáticos y donde se aplicaron los diferentes procesos de desinfección. Se observó normalidad de datos (verificada con el test de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (verificada con el test de Levene). Las variables dependientes: Contaminación bacteriana, contaminación fúngica, fenolización y respuesta de los ápices a los 21 días. Cuando cumplieron estos postulados, fueron objeto de la prueba de Duncan. Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente con el paquete estadístico IBM SPSS versión 27 para Windows 10 y se utilizó una confiabilidad en la estimación del 95% ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respuesta de ápices meristemáticos a patógenos

La contaminación bacteriana (Figura 4A) estuvo ausente en la mayoría de las desinfecciones y se limitó a F0B0 (E-I), B-B (E-I), y FB-F (E-I) con un 20% de contaminación y B-F (E-I) con 40%, lo que se puede atribuir a la resistencia de las bacterias. La contaminación fúngica (Figura 4B) en el medio de cultivo se presentó en F0B0 (E-I), F0B0-F (E-I) y B-F0B0 (E-I) un 20% de contaminación, puede deber a la total ausencia de fungicida *ex vitro* e *in vitro* con excepción de E3. La falta fungicida *ex vitro* pudiera eliminar a los hongos sobrevivientes en el tejido.

Figura 4: Establecimiento *in vitro* de plátano Dominicó y la respuesta ante la contaminación bacteriana (A) y fúngica (B) en porcentaje. **F0B0** desinfección sin fungicida ni bactericida; **F0B** es desinfección solo con bactericida; **FBO** desinfección solo con fungicida; **FB** desinfección con fungicida y bactericida; **(E)** Procedimiento *ex vitro*; **(I)** procedimiento *in vitro*



Sanes (2002) menciona que la proliferación de microorganismos contaminantes en los medios de cultivo se puede observar a partir de los cinco días del establecimiento de los ápices lo cual guarda relación con los establecimientos realizados (Sanes, 2002). Los explantes con proliferación bacteriana, expresan necrosamiento del tejido externo, aislándolo del contacto con el medio de cultivo, mientras que alrededor se forma una lámina blanquecina o crema, el procedimiento a seguir es eliminar o descartar el material vegetal. La contaminación bacteriana es más severa debido a su detección en el establecimiento, permanece inactiva dentro de la célula vegetal e incluso transfiriéndose a los primeros subcultivos de multiplicación (Sandoval, et. al, 1991; Díaz et al., 2016).

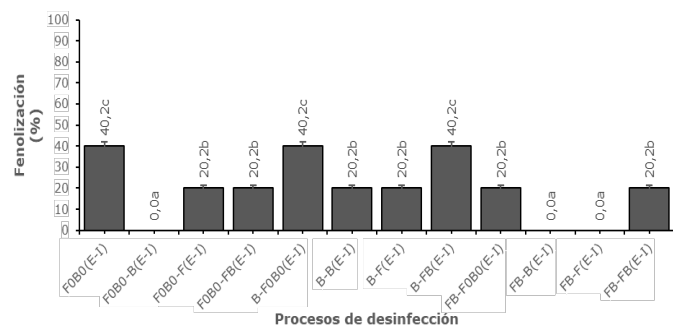
La contaminación fúngica por otra parte es fácilmente detectable en cada una de las fases *in vitro* y por lo general su causa refiere a una inadecuada desinfección del

material vegetal y manipulación de la asepsia en el área de cámara de flujo laminar (Díaz et al., 2016). De acuerdo con Díaz et al (2022) en su trabajo de identificación de agentes contaminantes en musáceas mediante la tinción de Gram., determinó que los géneros de hongos más presentes en el tejido de los explantes y son resistentes a la desinfección son *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y bacterias Gram negativas (Díaz et al., 2022). El establecimiento es la primera fase del cultivo *in vitro* la cual se enfoca en la transición de material vegetal o explantes *in situ* a *in vitro*, para ello se deben emplear desinfectantes en concentraciones y tiempo de exposición óptimos, para evitar la proliferación de microbiana y sin que esta se convierte en un posible agente que aumente su estrés fisiológico y así la producción de fenoles (López et al., 2015).

Respuesta de ápices meristemáticos y la producción fenoles

La producción fenoles (Figura 5) está presente de fenoles en cada proceso de desinfección F0B0(E-I), B-F0B0(E-I), y B-FB(E-I) con un 40% y F0B0-F(E-I), F0B0-FB(E-I), B-B(E-I), B-F(E-I), FB-F0B0(E-I), y FB-FB(E-I) con 20% de ápices fenolizados, se exceptuó F0B0 (E-I), FB-B (E-I) y FB-F (E-I), la producción de estos compuestos son un mecanismo de defensa antes el estrés puede atribuirse a los cortes y exposición a los diferentes tratamientos de desinfección. Lo cual a su vez destaca la necesidad de adicionar compuestos antioxidantes al medio de cultivo y durante su procesamiento *ex vitro*.

Figura 5: Establecimiento *in vitro* de P. Dominicó y la respuesta ante la fenolización en porcentaje. **F0B0** desinfección sin fungicida ni bactericida; **F0B0** desinfección sin fungicida ni bactericida; **F0B** es desinfección solo con bactericida; **FBO** desinfección solo con fungicida; **FB** desinfección con fungicida y bactericida; **(E)** refiere al procedimiento *ex vitro*; y la tetra **(I)** es el procedimiento *in vitro*



La fenolización incrementó en la base del meristemo punto meristemático donde se encuentran células en constante división celular de tipo mitótica) con el transcurso de las semanas, a pesar de esto los explantes se mantenían medianamente viables, los fenoles son la respuesta de las enzimas como las polifenoloxidasas y tirosinasas que la sintetizan y liberan en el tejido junto a otras proteínas en forma de exudados cuando recibe una señal de herida o corte, esto con el fin de formar una barrera protectora contra agentes externos en consecuencia, dentro del proceso de establecimiento esto disminuye crecimiento y la viabilidad de los explantes (Echenique y Mamani, 2021;

Ancasi et al., 2016 citando a Amiot et al., 1996 & Bray et al., 2000).

La de oxidación por efecto de los fenoles en la célula vegetal es la respuesta que se expresa en los primeros 7 días, a partir de las 72 h desde la siembra, y de forma progresiva estos mismos se convierten a la vez en fuertes agentes oxidantes hasta un punto de no retorno en donde el explante pierde su capacidad de regeneración, y empieza su senescencia. (Castro y Maradiaga, 2015). La presencia de fenoles se puede controlar con el empleo de agentes antioxidantes como un método preventivo, pese a esto de acuerdo a los resultados de cada establecimiento que esto puede que no se cumpla como regla general y dependa en específico de cultivar o híbrido que se manipule (Echenique y Mamani, 2021).

Así mismo Corozo et al (2021) señalan que una alternativa de uso de agentes antioxidantes es el carbón activado como un soporte inhibitorio de la oxidación de los fenoles, que ha registrado resultados positivos, y en específico problemas de oxidación asociados al cultivo *in vitro* de musáceas (Corozo et al., 2021; Díaz et al., 2016).

Respuesta de ápices meristemáticos al proceso de desinfección

En la Figura 6 la respuesta de los ápices meristemáticos se clasifica como ápices activos e inactivos, también denominados ápices sobrevivientes y ápices sin respuesta *in vitro*. Los procesos de desinfección que sobresalen en porcentaje de sobrevivencia son E10 (FB (E) – F0B (I)) y E11 (FB (E) – FB (I)) con un 80% cada uno. Pese a esto los ápices evidencian una baja capacidad de regeneración, su coloración es crema y su muerte celular es inminente, mientras que los ápices meristemáticos E2 (F0B0 (E) – F0B (I)) tuvieron apenas 20% de ápices activos que cuentan con una coloración verdusca luego de los primeros siete días del establecimiento hasta los 28 días, luego de estos ápices empiezan a perder su totipotencia.

Figura 6: Establecimiento *in vitro* de plátano Dominicó y la respuesta de los ápices inactivos y activos en porcentaje. **F0B0** desinfección sin fungicida ni bactericida; **F0B** es desinfección solo con bactericida; **F0** desinfección solo con fungicida; **FB** desinfección con fungicida y bactericida; **(E)** refiere al procedimiento *ex vitro*; y la tetra **(I)** es el procedimiento *in vitro*

Para que el establecimiento sea óptimo es necesario prevenir la contaminación microbiana y la fenolización que oxida la célula vegetal, los cuales destacan como los dos principales problemas en el cultivo *in vitro* (Hernández & González, 2010). Esto se contrarresta con la desinfección *ex vitro* (mediante NaClO y temperatura) además de que el medio de cultivo debe contener agentes antioxidantes (como: Ácido ascórbico y L-cisteína) junto con un adecuado estímulo suplementado con reguladores de crecimiento (BAP y AIA), así como lo declara Ancasi et al (2016) con esto se asegura la sobrevivencia y proliferación de los explantes (Ancasi et al., 2016; Osorio, 2019). Orlando (2020) afirma que los procesos de cultivo *in vitro* desde el establecimiento hasta el enraizamiento o elongación se propician debido a la totipotencia o capacidad

de regeneración que poseen las células del ápice meristemático (Olmos et al., 2010).

Para esto Velazco (2019) también destaca que el tamaño del explante en los medios de cultivo como es un factor que juega un rol crucial, debido a que entre menor sea su tamaño, menor será su capacidad de regenerarse, una menor cantidad de células entran en un estrés fisiológico causado por la acción del desinfectante y el manejo en la cámara de flujo laminar, por lo cual producirá felones que a su vez al oxidarse impedirán el contacto del ápice con el medio de cultivo. Lo cual no corrobora Brochero y De la Pava (2012) en su trabajo de investigación, estandarizado en 5 mm el tamaño final del explante por su respuesta *in vitro* (Velazco, 2019; Brochero y De la Pava, 2012).

CONCLUSIONES

La actividad de los ápices meristemáticos en las desinfecciones FB-B (E-I) y FB-F (E-I) sobresalió del resto con un 80% de actividad. Por otra parte, F0B0-B (E-I) al expresar una mejor calidad del ápice por su coloración y la proliferación de la dominancia apical a los 28 días puede considerarse el mejor proceso de desinfección para la fase de establecimiento *in vitro*.

La contaminación por bacterias representa una pérdida significativa del material vegetal a diferencia de la contaminación por hongos. La mayor pérdida de ápices meristemáticos o explantes se debe a la presencia de fenoles y la inactividad de los mismos en cada proceso de desinfección, de esta manera el estrés oxidativo causado por el manejo y la capacidad de regeneración de los ápices son los principales factores a considerar para el adecuado establecimiento *in vitro* de plátano clon Dominicó.

La respuesta de los ápices meristemáticos activos o ápices sobrevivientes es visible mediante su coloración verdusca a partir de la primera semana del establecimiento hasta los 28 días, luego de estos ápices empieza a disminuir su totipotencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ancasi-Espejo, R. G., Montero-Tonconi, J. R., Ferreira-Castedo, N. J., & Muñoz-Guzmán, I. (2016). Determinación un mejor medio de cultivo en la fase de establecimiento para la propagación *in vitro* de plátano (*Musa paradisiaca* L). *Journal of the Selva Andina Research Society*, 7(2), 104–111. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2072-92942016000200008&script=sci_abstract&tlng=pt
- Arbeláez, L. M. A., Montoya, J. L., & Saavedra, S. A. R. (2016). *Evaluación de protocolos para el establecimiento y desinfección in vitro de meristemas de plátano musa spp*/Assessment protocols for the establishment and disinfection in vitro meristem of banana *Musa spp.* *Vitae*, 23, S391. <https://www.proquest.com/openview/a13dc47d98b3250c19ee0113be113084/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1806352>

- Brochero Bustamante, C., & Soares, N. (2012). *Estandarización de las etapas de establecimiento y multiplicación in vitro de plátano musa balbisiana variedad curare enano para la construcción de un protocolo de micropropagación*. <https://repositorio.unimagdalena.edu.co/handle/123456789/1371>
- Castro, E., & Maradiaga, E. (2015). Micropropagación tradicional y en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal del cultivar de plátano (*Musa spp.*) Tesis. CEMSA. Universidad Nacional Agraria <https://repositorio.una.edu.ni/3282/>
- Corozo Quiñonez, L., Macías Ponce, F., Del Valle Moreira, M. et al. (2021) Effect of Auxins, Cytokinin and Activated Charcoal on In Vitro Propagation of Plantains Barraganete and Curare (*Musa AAB*). *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* 91, 431–440. <https://doi.org/10.1007/s40011-020-01218-7>
- Cruz-Rosero, Nicolás, Canchignia-Martínez, Hayron, Morante-Carriel, Jaime, Nieto-Rodríguez, Enrique, Cruz-Rosero, Edwin, & Cabrera-Casanova, Daniela. (2016). *In vitro propagation of the Orito banana cultivar (Musa acuminata AA)*. *Biotecnología Aplicada*, 33(4), 4201-4204. Recuperado en 21 de febrero de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522016000400001&lng=es&tlng=en
- Echenique-Quezada, M. A., & Mamani-Quisbert, M. F. (2021). Determinación del medio de cultivo para el establecimiento in vitro de banano (*Musa acuminata*) en la Estación Experimental Sapecho–Alto Beni: Marco Antonio Echenique Quezada, Mariela Filomena Mamani Quisbert. *Apthapi*, 7(3), 2247-2254. <https://apthapi.umsa.bo/index.php/ATP/article/view/112/103>
- Dávila M. Guía técnica para el cultivo del plátano (*Musa sp.*) (1983). Estación Experimental” Dean Padgett B.” IICA Biblioteca Venezuela.
- Díaz Lezcano, M. I., Flor Benítez, B. A., Enciso Garay, C. R., & González Segnana, L. R. (2016). El carbón activado y las condiciones de oscuridad en la micropropagación de banana variedad Nanicão. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 18(2), 140. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.55618>
- Díaz Lezcano, M. I., Pereira Báez, K. D., Benítez Vera, S. G., Brítez Moreira, J. R., Alegre, C. E., Duarte Ovejero, N. N., Mongelós Franco, J. Y., Mussi Cataldi, . C. E., & Batte Martínez, H. D. (2022). Identificación de agentes causales de la contaminación microbiana durante la micropropagación de *Musa spp.* *Steviana*, 13(2), 20–27. https://doi.org/10.56152/StevianaFacenV13N2A2_2021
- FAOSTAT, 2022. Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Cultivos y productos de ganadería. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>
- Fernández, F.; Pico, J.; Avellán, B. (2021) “Guía para la Producción y Manejo Integrado del Cultivo de Plátano” 1era Ed. 2021. Guía N° 127. 28 páginas.
- Hernández, Y., & González, M. E. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento in vitro de frutales perennes. *Cultivos Tropicales*, 31(4), 0–00. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362010000400015&script=sci_arttext&tlng=pt
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC). (2022). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*. https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2022/PPT_%20ESPAC_%202022_04.pdf
- López Vera, M. R., López Vera, T. M., Zevallos, B., Ramos, L. (2015) Protocolos de establecimiento y multiplicación in vitro de meristemas apicales en plátano Dominico Hartón (*musa sp.*) <http://sitios.esпам.edu.ec/sigloxxi/Ponencias/IV/ponencias/66.pdf>
- Mamani Quisbert, M. F. (2022). *Evaluación de métodos de desinfección y medios de cultivo en las fases de introducción y establecimiento In vitro del cultivo de banano (Musa sp. AAA)*. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/29077>
- Martinez, G. (2009). *Situación nacional de las Musáceas*. *Producción Agropecuaria*, 2(1), 31-44. <https://investigacion.unesur.edu.ve/index.php/rpa/article/view/40>
- Velasco Párraga, A. A. (2019). Efecto del tamaño del explante sobre la tasa de multiplicación de plantas in vitro de cultivares de plátano. <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3834>
- Orlando, L. A. J. (2020). *Influencia de la altura del hijuelo sobre el vigor y regeneración de plántulas meristemáticas de plátano hartón (Musa AAB)* (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR). https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/LEMA%20ATIEN-CIE%20JEFFERSON%20ORLANDO_compressed.pdf
- Osorio, S. M. (2019). *Establecimiento in vitro de plátano (Musax paradisiaca L.) cv“Curaré enano”* (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2019).

Sanes Alvarez, S. C. (2002). *Establecimiento y micropropagación masiva "in vitro" de Musa Balbisiana (Híbrido FHIA-21), mediante el cultivo de meristemas apicales*. <https://repositorio.unisucre.edu.co/handle/001/59>

Scocchi, Adriana; Rey, Hebe Yolanda; Conservación de Germoplasma in Vitro; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; 2010; 369-375 <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/200102>