

Cambios morfoanatómicos del ápice del vástago en banano CIEN BTA-03 y su parental Williams bajo condiciones *in vitro*

Morphoanatomic changes in shoot apex of CIEN BTA-03
banana and its parental "Williams" under
in vitro conditions

M. Ramírez-Villalobos¹, H. Lindorf² y E. de García³

¹Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia (LUZ). Apartado 15205. ZU4005. ²Laboratorio de Morfología y Anatomía Vegetal, Centro de Botánica Tropical, Instituto de Biología Experimental (IBE), Facultad de Ciencias. UCV. Apartado 47114. Los Chaguaramos, Caracas 1041, Venezuela. ³Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Centro de Botánica Tropical, IBE, Facultad de Ciencias, UCV. Apartado 47114. Los Chaguaramos, Caracas 1041, Venezuela.

Resumen

Existen pocas evidencias estructurales acerca del crecimiento *in vitro* del ápice del vástago (AV) en bananos. Este trabajo tuvo como objetivo analizar los cambios morfoanatómicos del AV y explante en los bananos CIEN.BTA-03 y Williams cultivados con benciladenina (BA). Se estudiaron AV en yemas apicales del vástago bajo 0, 2,5 y 5 mg.L⁻¹ de BA durante 0, 3, 6, 9 y 12 días. El AV de ambos bananos no mostró cambios en su estructura y su diámetro tendió a ser más ancho en yemas cultivadas en medio con BA. Transcurridos 35 días BA indujo mayor número de brotes en Williams a 2,5 mg.L⁻¹ y en CIEN.BTA-03 a 5 mg.L⁻¹. Estos resultados constituyen datos importantes para la micropropagación comercial de bananos.

Palabras clave: ápice del vástago, benciladenina, *Musa* sp.

Abstract

Structural evidence about the *in vitro* growth of the shoot apex (SA) in banana is for the most part lacking. This paper presents an analysis of the morphoanatomic events that occur during the *in vitro* development of the SA

and explants of CIEN.BTA-03 bananas and "Williams" cultivated with benzyladenine (BA). We examined the SA of shoot apex buds on 0, 2.5 and 5 mg.L⁻¹ of BA for 0, 3, 6, 9 and 12 days. The SA in both bananas did not showed changes in the structure and its diameters were larger for buds cultured in medium with BA. After 35 days BA induced the highest number of shoots per explant in "Williams" at 2.5 mg.L⁻¹ BA and in CIEN.BTA-03 at 5 mg.L⁻¹. These results constitute useful data for commercial micropropagation in bananas.

Key words: shoot apex, morphogenesis, benzyladenine, *Musa* sp.

Introducción

En el mercado internacional las bananas se encuentran entre las primeras frutas de exportación ocupando el segundo lugar después de las cítricas. Todos los bananos y los plátanos comerciales cultivados en Venezuela son susceptibles a varias enfermedades, entre ellas la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) y la Sigatoka Amarilla (*M. musicola*) que han ocasionado grandes pérdidas en la producción y calidad de la fruta. El banano CIEN BTA-03 es un variante somaclonal tetraploide (AAAA) resistente a la Sigatoka negra y amarilla, obtenido en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela. Este variante somaclonal se produjo mediante la inducción de brotes adventicios en yemas apicales del vástago del banano Williams cultivados *in vitro* bajo concentraciones relativamente altas de la benciladenina (BA). Williams es un triploide (AAA) del subgrupo Cavendish, comercial y susceptible a estas enfermedades (Giménez *et al.*, 2008).

El crecimiento del vástago resulta por la actividad del meristemo apical del vástago o ápice del vástago (AV) y se expresa en alargamiento y

Introduction

Bananas take part of the international market like those export fruits occupying the second place after citric ones. All the bananas and commercial plantains cultivated in Venezuela are susceptible to several diseases, like Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) and Yellow Sigatoka (*M. musicola*) among them, causing great losses in fruit quality and production. The CIEN BTA-03 banana is a variant tetraploid somaclonal (AAAA) resistant to the Black and Yellow Sigatoka, obtained from the Vegetal Biotechnology Laboratory, Experimental Biology Institute, Central University of Venezuela. This somaclonal variant was produced through the adventitious shoots induction in apical buds of shoot of «Williams» bananas *in vitro* cultivated under relatively high concentrations of benciladenine (BA). «Williams» is a triploid (AAA) of subgroup Cavendish, commercial and susceptible to these diseases (Giménez *et al.*, 2008).

The shoot growth is observed due to the shoot apical meristem activity or shoot apex (AV) and it is expressed by enlarging and ramification (foliar primordia and axil buds. The AV of monocotyledonous

ramificación (primordios foliares y yemas axilares). El AV de las monocotiledóneas ha sido menos estudiado que el de las dicotiledóneas y con frecuencia sucede en este grupo de plantas que el ápice del vástago desarrolla sólo una capa de túnica. Existen pocas investigaciones en banano sobre el AV (Fahn *et al.*, 1963; Fahn, 1967; Biju *et al.*, 1997), y éstas se han realizado con plantas cultivadas en campo. Para el nivel *in vitro* no se dispone de mayor información sobre los cambios morfoanatómicos que ocurren en el ápice del vástago del explante (Ramírez y de García, 2008). Este conocimiento es fundamental si se pretende mejorar el proceso de organogénesis.

Algunas investigaciones de banano reportan el efecto benéfico de las citoquininas sobre la formación de vástagos o brotes axilares en yemas apicales del vástago de banano cultivadas *in vitro* (Roels *et al.*, 2005). Las citoquininas tienen gran importancia económica sobre todo en la industria de la micropropagación, siendo la más usada la N⁶-benciladenina (BA). Estas sustancias son derivados de adenina caracterizados por su capacidad de inducir la división celular en plantas e interactuar con las auxinas en la determinación de la dirección de la diferenciación celular. Entre sus funciones se encuentran la proliferación de yemas axilares y la neoformación de vástagos (Ramírez y de García, 2008). Dada la importancia mundial del cultivo del banano en esta investigación se planteó como objetivo analizar los cambios morfoanatómicos que ocurren durante el desarrollo del ápice del vástago

has been less studied in comparison to the dicotyledonous and frequently occurs in this group of plants that the shoot apex develops only one tunic layer. There are not a lot of researches about the AV in banana (Fahn *et al.*, 1963; Fahn, 1967; Biju *et al.*, 1997), and these have been carried out with plants cultivated in field. For *in vitro* level there is no enough information about the morphoanatomic changes that occurs in the shoot apex of explant (Ramírez and de García, 2008). This knowledge is essential if the organogenesis process would to be improved.

Some researches about banana report the beneficial effect of cytokinin on shoot or axillary shoot formation in apical buds of banana shoots cultivated *in vitro* (Roels *et al.*, 2005). The cytokinin has great economic importance especially on micropropagation industry, being the N⁶-benciladenine (BA) the more used. These substances are derived from adenine and they are characterized by its capacity of inducing cellular division in plants and interact with auxins in determination of cellular differencing direction. The proliferation of axillary buds and neoformation of shoots are considered between its functions (Ramírez and de García, 2008). Because the world importance of banana cultivation, this research had as purpose to analyze the morphoanatomic changes that occurs during the shoot apex development and explant of CIEN BTA-03 bananas and "Williams", cultivated *in vitro* under different benzyladenine concentrations.

y explante de los bananos CIEN BTA-03 y Williams, cultivados *in vitro* bajo distintas concentraciones de benciladenina.

Materiales y métodos

El material vegetal se obtuvo de vitroplantas del banano CIEN BTA-03 (AAAA) y su parental Williams (AAA) (procedentes de una cuarta multiplicación) con ocho semanas de cultivo según lo descrito por Ramírez *et al.* (2008). Para el estudio de la morfoanatomía del explante y el AV de las vitroplantas se extrajeron puntas del vástago o yemas apicales del vástago -constituídas por el AV y tres o cuatro primordios foliares- con una pequeña porción del rizoma. Estos explantes de 8 mm de largo por 1,5 mm de diámetro se sembraron en medio nutritivo Murashige y Skoog (1962) de acuerdo a lo descrito por Ramírez *et al.* (2008) con diferentes concentraciones de BA 0, 2,5 y 5 mg L⁻¹ y se mantuvieron bajo las condiciones de cultivo luz blanca fluorescente continua (33 μmol.m⁻².s⁻¹) y temperatura de 25±1°C, por un tiempo de 3, 6, 9 y 12 días después de la siembra, para un total de 12 tratamientos.

Una vez transcurrido el tiempo de cultivo de los explantes en cada concentración de BA se procedió a la fijación de tres muestras por tratamiento en FAA al 70%, procesamiento histológico, cortes longitudinales (12 μm) con un micrótopo de rotación (Leitz-Wetzlar), coloración con safranina-fast green y montaje en bálsamo de Canadá (Ramírez *et al.*, 2008) para su observación en el microscopio de luz (Nikon type 108). Con

Materials and methods

The vegetal material was obtained from vitroplants of CIEN BTA-03 (AAAA) banana and its parental "Williams" (AAA) (coming from a fourth multiplication) with eight cultivation weeks according to those described by Ramírez *et al.* (2008). For the study of the explant morphoanatomy and the AV of vitroplants, shoot tips or shoot apical buds were extracted formed by the AV and three or four floral primordia with a little portion of rhizome. These explants of 8 mm long by 1.5 mm diameter were sowed on nutritive medium Murashige and Skoog (1962) according to those described by Ramírez *et al.* (2008) with different concentrations of BA to 0, 2.5 and 5 mg.L⁻¹ and they were kept under cultivation conditions of continue and fluorescent white light (33 μmol.m⁻².s⁻¹) and a temperature of 25±1°C, during 3, 6, 9 and 12 days after sowing, for a total of 12 treatments.

Once explants cultivation time passed at any BA concentration three samples were fixed by treatment in FAA to 70%, histological processing, longitudinal cuttings (12 μm) with a rotation microtome (Leitz-Wetzlar), coloring with safranin-fast green and assembly on Canada balsam (Ramírez *et al.*, 2008) for its observation on light microscope (Nikon type 108). In order to compare the AV initial explant anatomy cultivation (0 days) with those at any BA concentration under different cultivation times, axillary buds were isolated from shoot of vitroplants of both bananas, they were immediately fixed on FAA (70%) and

la finalidad de comparar la anatomía del AV del explante inicial sin cultivo (0 días) con la de aquellos en cada concentración de BA bajo los diferentes tiempos de cultivo se aislaron yemas apicales del vástago de las vitroplantas de ambos bananos, se fijaron inmediatamente en FAA (70%) y se realizaron cortes longitudinales (12 μm) en el micrótopo de rotación y se colorearon con safranina-fast green. El diámetro del AV se midió en las secciones longitudinales hasta los 12 días, considerando el punto de la axila del último primordio foliar y se analizó la organización celular del mismo (túnica-carpus) y la morfoanatomía del explante.

Adicionalmente se usó un diseño totalmente al azar con tres repeticiones y cinco explantes como unidad experimental para la evaluación, hacia los 35 días de cultivo, del número de brotes por explante (NB), altura de planta (AP), número de hojas (NH), número de raíces (NR) y longitud de la raíz más larga (LR). Estas variables se analizaron a través del programa estadístico SPSS versión 12 (Pérez, 2005) cuando se detectaron efectos significativos se aplicó la prueba de diferencias mínimas significativas.

Resultados y discusión

Morfoanatomía de la yema apical del vástago. En secciones longitudinales de yemas apicales del vástago del banano CIEN BTA-03 y su parental Williams, tanto del explante inicial como de aquellos cultivados con o sin BA (2,5 y 5 mg.L^{-1}) se localizó el AV en el centro del

longitudinal cutting were done (12 μm) in the rotation microtome and they were colored with safranin-fast green. Diameter of AV was measured in longitudinal sections until 12 days, considering the axil point of the last foliar primordia and cellular organization was analyzed (tunic-carpus) and the explant morphoanatomy.

Besides, a complete random design with three replications was used and five explants were taken as experimental unit for the evaluation, close to 35 cultivation days, from shoot number by explant (SN), plant height (PH), leaves number (LN), roots number (RN) and length of longer root (LR). These variables were analyzed through the statistical program SPSS version 12 (Pérez, 2005) when significant effects were detected, the significant differences minimum test was applied.

Results and discussion

Morphoanatomy of shoots apical buds. In longitudinal sections of shoot apical buds of CIEN BTA-03 banana and its parental "Williams", both initial explant and those cultivated with or without BA (2.5 and 5 mg.L^{-1}) the AV was on center of rhizome rounded by foliar sheaths and to the sides of apical meristem, the foliar primordia were observed (figure 1A). The rhizome was mainly formed by the parenchyma and two areas can be distinguished: the external one or cortical parenchyma and a central cylinder. This morphoanatomic description agreed with data reported for banana by other researchers (Fahn *et al.*, 1963;

rizoma rodeado por las vainas foliares y a los lados del meristemo apical se observaron los primordios foliares (figura 1A). El rizoma estuvo constituido en gran parte por parénquima y se pudieron distinguir dos zonas: la externa o parénquima cortical y un cilindro central. Esta descripción morfoanatómica coincidió con los datos reportados por otros investigadores para banano (Fahn *et al.*, 1963; Biju *et al.*, 1997), lo que indicó que el uso de BA a concentraciones de 2,5 y 5 mg.L⁻¹ no modificó la estructura del explante en ambos bananos, aspecto muy importante para la micropropagación clonal.

Morfoanatomía del ápice del vástago. El AV de plantas de los bananos CIEN BTA-03 y Williams cultivados *in vitro* bajo diferentes concentraciones de BA y tiempos de cultivo, mostró la organización "túnica-corpus" (Fahn *et al.*, 1963) (figura 1B). En el material observado la túnica fue uniseriada, en contraste con otros bananos como el Dwarf Cavendish y Red Banana, en los que la túnica presentó dos (Fahn *et al.*, 1963) y tres (Biju *et al.*, 1997) capas celulares, respectivamente.

Variaciones en las dimensiones del ápice del vástago. En general, se encontró que el AV de los bananos CIEN BTA-03 y Williams mostró una forma de domo durante su crecimiento *in vitro* (figura 1B). El diámetro del AV de ambos bananos tendió a ser más ancho en la mayoría de los explantes que se cultivaron en medio con BA, al compararlos con los que no se les aplicó BA (cuadro 1). En el explante inicial de CIEN BTA-03 el diámetro del AV (198,9 µm) resultó

Biju *et al.*, 1997), that showed that the use of BA to concentrations of 2.5 and 5 mg.L⁻¹ did not modify the explant structure in both bananas, a very important aspect for clonal micropropagation.

Morphoanatomy of shoot apex. The AV of plants of CIEN BTA-03 banana and "Williams" cultivated *in vitro* under different concentrations of BA and cultivation times, showed the organization "tunic-corpus" (Fahn *et al.*, 1963) (figure 1B). In the material observed the tunic was uniseriate, in contrast with other bananas like Dwarf Cavendish and Red Banana, in where the tunic showed two (Fahn *et al.*, 1963) and three (Biju *et al.*, 1997) cellular layers, respectively.

Variations on shoot apex dimensions. In general, the AV of CIEN BTA-03 banana and "Williams" showed a dome shape during its *in vitro* growth (figure 1B). The AV diameter of both bananas tended to be wider in the most of explants cultivated in BA medium, when comparing them with those without BA (table 1). In the initial explant of CIEN BTA-03 the diameter of AV (198.9 µm) was higher respect to those of shoot apical buds cultivated on medium without BA and lower in relation to the buds in medium with BA during the first six cultivation days 2.5 mg.L⁻¹ of BA and between the nine and twelve days with 5 mg.L⁻¹ of BA. In "Williams" the diameter of AV of initial explant (164.78 µm) exceed those of buds cultivated with or without BA.

The Av diameters obtained in different treatments were located between 73.9 and 142.1 µm for

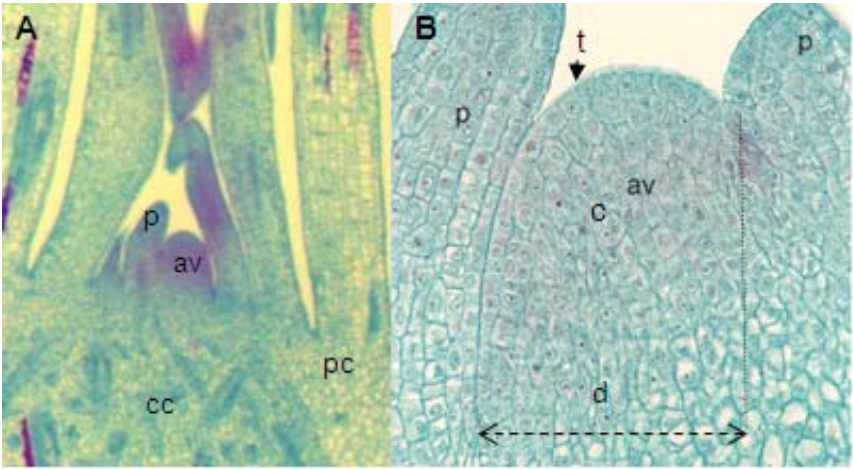


Figura 1. Sección longitudinal de yema apical del vástago (A) y del ápice del vástago (B) de vitroplantas de banana Williams. av: ápice del vástago, c: corpus, cc: cilindro central, d: diámetro, p: primordio foliar, pc: parénquima cortical, t: túnica. A=40X. B=400X.

Figure 1. Longitudinal section of shoot apical bud (A) and of shoot apex (B) of vitroplants of "Williams" banana. av: shoot apex, c: corpus, cc: central cylinder, d: diameter, p: foliar primordium, pc: cortical parenchyma, t: tunic. A=40X. B=400X.

mayor con respecto al de las yemas apicales del vástago cultivadas en medio sin BA y más bajo en relación al de las yemas en medio con BA durante los primeros seis días de cultivo bajo $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BA y entre los nueve y doce días con 5 mg.L^{-1} de BA. En Williams el diámetro del AV del explante inicial ($164,78 \mu\text{m}$) superó al de las yemas cultivadas con o sin BA.

Los diámetros del AV obtenidos en los diferentes tratamientos se ubicaron entre $73,9$ y $142,1 \mu\text{m}$ para Williams y entre $135,2$ y $241,5 \mu\text{m}$ para CIEN BTA-03. Estos diámetros fueron considerablemente más bajos que los $280 \mu\text{m}$ indicados para otros bananos (Fahn *et al.*, 1967) y en el

"Williams" and between 135.2 and $241.5 \mu\text{m}$ for CIEN BTA-03. These diameters were considerable lower than $280 \mu\text{m}$ indicated for other bananas (Fahn *et al.*, 1967) and in case of cultivar Dwarf Cavendish fluctuated between 180 and $270 \mu\text{m}$ (Fahn *et al.*, 1963). In the CIEN BTA-03 and "Williams" bananas, the AV diameter decreased and increased respect to the cultivation time on medium with or without BA (table 1). These AV changes were related to plastochron phase (Fahn *et al.*, 1963), thus, that the AV initially showed its dome typical shape, that increased on diameter until reaching the maximum area after experimented

Cuadro 1. Diámetro (µm) del ápice del vástago de yemas apicales de vástago del banano CIEN BTA-03 y su parental Williams cultivados *in vitro* bajo diferentes concentraciones de benciladenina (BA) y tiempos de cultivo.

Table 1. Diameter (µm) of shoot apex of apical buds of CIEN BTA-03 banana and its parental "Williams" cultivated *in vitro* under different benciladenina concentrations (BA) and cultivation times.

Benciladeninam g.L ⁻¹		Diámetro del ápice del vástago (µm)				
		0 días	3 días	6 días	9 días	12 días
Banano CIEN BTA-03	Explante inicial					
	0	198,9	170,5	147,7	135,2	154,4
	2,5		210,2	235,8	187,5	142,0
	5		127,8	165,2	241,5	221,0
Banano Williams	0	164,9	73,9	127,8	85,2	73,9
	2,5		93,8	93,8	99,4	113,6
	5		113,6	119,3	127,8	142,1

caso del cultivar Dwarf Cavendish que fluctuó entre 180 y 270 µm (Fahn *et al.*, 1963). En los bananos CIEN BTA-03 y Williams se observó que el AV disminuyó y aumentó de diámetro con el tiempo de cultivo en medio con o sin BA (cuadro 1). Estos cambios del AV se asociaron a la fase plastocrónica (Fahn *et al.*, 1963), es decir, que el AV inicialmente mostró su forma típica de domo, que aumentó en diámetro hasta alcanzar su área máxima, luego experimentó cambios morfológicos en la medida que comenzaron a emerger los primordios foliares hasta obtener su área mínima. Posteriormente el AV recuperó su forma inicial después de la emergencia de los primordios foliares.

morphological changes when foliar primordia begin to obtain its maximum area. After, the AV recovered its initial shape after emergence of foliar primordia.

The AV of CIEN BTA-03 and its parental "Williams" cultivated in presence of BA (2.5 and 5 mg.L⁻¹) showed the dome shape with the organization tunic-carpus with a layer of tunic and showed only changes in diameter. This result constitutes an important data for the application of commercial clonal propagation systems of these *in vitro* bananas under BA concentrations evaluated.

Variations on explants development. At 35 cultivation days significant differences were observed at any morphological variables

El AV del banano CIEN BTA-03 y su parental Williams cultivados en presencia de BA (2,5 y 5 mg.L⁻¹) presentó forma de domo con la organización túnica-carpus con una capa de túnica y mostró sólo cambios en el diámetro. Este resultado constituye un dato importante para la aplicación de sistemas de propagación clonal comercial de estos bananos *in vitro* bajo las concentraciones de BA evaluadas.

Variaciones en el desarrollo de los explantes. A los 35 días de cultivo se detectaron diferencias significativas en todas las variables morfológicas estudiadas respecto a la concentración de BA (cuadro 2). La no aplicación de BA en el medio mostró los máximos valores en todas las variables, excep-

studied respect to the BA concentration (table 2). The no application of BA in medium showed the maximum values on every variable, except in sprouts number per explant (SN). Sprouting only happened in those buds cultivated on medium with BA, in "Williams" the concentrations of 2.5 and 5 mg.L⁻¹ of BA were statistically the same and in CIEN BTA-03 the 5 mg.L⁻¹ of BA exceeded those of 2.5 mg.L⁻¹.

The high shooting response obtained with BA at 35 days was related to the rapid addition of this growth regulator to the explant which promoted cellular division, the buds proliferation and development of foliar primordia, among others. The

Cuadro 2. Número de brotes por explante (NB), altura de planta (AP), número de hojas por planta (NH), número de raíces por planta (NR) y longitud de la raíz más larga (LR) durante el cultivo *in vitro* del banano CIEN BTA-03 y su parental Williams, después de 35 días bajo diferentes concentraciones de benciladenina.

Table 2. Shoots number per explant (SN), plant height (PH), leaves number per plant (LN), roots number per plant (RN) and length of longer root (LR) during *in vitro* cultivation of CIEN BTA-03 banana and its parental "Williams", after 35 days under different benciladenina concentrations.

Benciladenina mg.L ⁻¹	NB	AP (cm)	NH	NR	LR (cm)
Banano CIEN BTA-03					
0	0	3,11a	3,17a	4,73a	7,84a
2,5	1,08a	1,59b	2,21b	1,20b	0,77b
5	3,16b	0,91c	2,05b	0,48b	0,23b
Banano Williams					
0	0	3,15a	3,90a	5,50a	9,38a
2,5	2,19a	1,68b	2,73b	1,26b	0,63b
5	1,89a	1,03bc	2,71b	0,54b	0,18b

Medias de cada variable con letras distintas difieren significativamente (P<0,05).

tuando en el número de brotes por explante (NB). La brotación ocurrió sólo en aquellas yemas que se cultivaron en medio con BA, en Williams las concentraciones de 2,5 y 5 mg.L⁻¹ de BA resultaron estadísticamente iguales y en CIEN BTA-03 la de 5 mg.L⁻¹ de BA superó a la de 2,5 mg.L⁻¹.

La alta respuesta de brotación obtenida con BA a los 35 días se relacionó con que los explantes incorporaron rápidamente este regulador del crecimiento que promovió la división celular, la proliferación de yemas y el desarrollo de primordios foliares, entre otros. La respuesta hormonal estuvo condicionada por la variación de la concentración y/o la sensibilidad del tejido frente a la hormona (Roels *et al.*, 2005).

Conclusiones

El ápice del vástago del banano CIEN BTA-03 y su parental Williams presentó forma de domo con la organización túnica-carpus y una capa de túnica. El diámetro del ápice del vástago fue más ancho al cultivarlo en un medio con benciladenina y se relacionó con la formación de nuevos primordios foliares. La concentración de 2,5 mg.L⁻¹ de benciladenina en el banano Williams y la de 5 mg.L⁻¹ en CIEN BTA-03 indujo el mayor número de brotes por explantes a los 35 días de cultivo. Las concentraciones de 2,5 y 5 mg.L⁻¹ de BA no modificaron la estructura del ápice del vástago ni la del explante en ambos bananos, lo cual constituye un dato importante para la aplicación de este protocolo en sistemas de propagación comercial de bananos *in vitro*.

hormonal response was conditioned by the variation of concentration and/or the tissue sensibility to the hormone (Roels *et al.*, 2005).

Conclusions

The shoot apex of CIEN BTA-03 banana and its parental «Williams» showed dome shape with the organization tunic-carpus and a tunic layer. The more wide shoot apex diameter when be cultivated on a benzyladenine medium and it was related to the formation of new foliar primordia. The concentration of 2.5 mg.L⁻¹ of benzyladenine in "Williams" banana and those of 5 mg.L⁻¹ in CIEN BTA-03 induced the higher number of shoots per explants at 35 cultivation days. The concentrations of 2.5 and 5 mg.L⁻¹ of BA did not modify the structure of shoot apex nor explant in both bananas, which constitutes an important data for the application of this protocol in commercial propagation system of *in vitro* bananas.

Acknowledgement

Authors want to express their gratitude to the Vicerrectorado Académico, Universidad del Zulia by the scholarship to carry out Postgraduate studies on Botanic, Science Faculty, Central University of Venezuela. To the Agricultural Botany Institute, Central University of Venezuela (UCV), especially to the Dr. Damelis Jáuregui and to the Biology Assistant Norbelis Garcés by its orientation and collaboration in the partial processing

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Fundación de la Universidad Central de Venezuela (FUCV), por financiamiento a este proyecto No. 0297/2006 dirigido por la Dra. Eva de García, y por el Vicerrectorado Académico de la Universidad. Al Instituto de Botánica Agrícola, Universidad Central de Venezuela (UCV) en especial la Dra. Damelis Jáuregui y a la Auxiliar de Biología Norbelis Garcés por su orientación y colaboración en el procesamiento parcial de las muestras, respectivamente.

Literatura citada

- Biju, S., S. Kurién y N. Mohanakumaran. 1997. Cambios en el punto de crecimiento del cultivar «Red Banana» durante diferentes fases fisiológicas. *InfoMusa* 6: 19-21.
- Fahn, A. 1967. *Plant Botany*. First English Edition. Pergamon Press Ltd., Headington Hill Hall, Oxford. 534 p.
- Fahn, A., S. Stoler y T. Firts. 1963. Vegetative shoot apex in banana and zonal changes as it becomes reproductive. *Bot. Gaz.* 124: 246-250.
- Giménez, C., E. de García y O. Haddad. 2008. Genetic and resistance stability to black Sigatoka disease during micropropagation of *Musa* CIEN BTA-03 somaclonal variant. *Phyton* 77: 65-79.
- of samples, respectively. To the UCV foundation of Central University of Venezuela. Research financed by the Foundation of the "Universidad Ventral de Venezuela" (FUCV) under the Project N° 0297/2006, directed by Eva de García, PhD, and the Academic Vice-Chancellor of "Universidad del Zulia"

End of english version

- Pérez, C. 2005. *Técnicas Estadísticas con SPSS 12. Aplicaciones al Análisis de Datos*. Madrid. Editorial Pearson Prentice Hall, Pearson Educación, S.A. 802 p.
- Ramírez, M. y E. de García. 2008. Obtainment of embryogenic cell suspensions from scapls of the banana CIEN BTA-03 (*Musa* sp., AAAA) and regeneration of the plants. *Electron. J. Biotechnol.* 11: 1-10.
- Ramírez, M., E. de García y H. Lindorf. 2008. Cambios morfoanatómicos en los ápices del vástago y de la raíz del banano Williams (AAA, *Musa* spp.) bajo distintas concentraciones de N⁶-nenciladenine. *J. Agric. Univ. P.R.* 92: 53-72.
- Roels S., M. Escalona, I. Cejas, C. Noceda, R. Rodríguez, M. Canal, J. Sandoval y P. Debergh. 2005. Optimization of plantain (*Musa* AAB) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 82:57-66.