

Anatomía y morfología de plantas de banano (*Musa* AAA) en fases *in vitro* y aclimatación

Jorge Arturo Sandoval-Fernández^{1*}

¹Investigador independiente, Costa Rica

*Autor de Correspondencia:

Jorge Arturo Sandoval-Fernández
jorgeasandoval3@gmail.com

Contribución:
Artículo Científico

Sección:
Fisiología y Bioquímica

Recibido:
15 diciembre, 2024

Publicado:
30 abril, 2025

Cita:
Sandoval-Fernández JA. 2025.
Anatomía y morfología de
plantas de banano (*Musa* AAA)
en fases *in vitro* y aclimatación.
*Acorbat Revista de Tecnología
y Ciencia* 2(1): 97
<https://doi.org/10.62498/ARTC.2597>

RESUMEN

Se realizó un estudio morfológico y anatómico comparativo entre plantas de banano cv. Gran enano (*Musa* AAA), en estado de micropropagación y en fase de aclimatación para determinar diferencias en sus estructuras anatómicas y morfológicas. Para tal efecto se procesaron pequeñas muestras de hojas, raíz y cormo en ambos tipos de condición de planta. Para obtener los cortes se usó el método de inmersión en parafina y cortes al micrótopo, para la observación mediante microscopía de luz. Se encontraron diferencias marcadas entre los aspectos analizados en ambos estados. Las hojas de plantas establecidas en cultivo *in vitro*, presentaron una cutícula muy delgada, casi nada de cera epicuticular y el resto de tejidos están aún poco diferenciados. Los estomas en su mayoría no son funcionales. No hay presencia de un pulvínulo propiamente dicho. Se observó un tejido de cormo, con pequeños indicios de yemas laterales, así como hojas envoltentes a partir del cormo indicando la formación posterior de un auténtico pseudotallo. Las raíces fueron muy evidentes, de naturaleza adventicia y ocasionalmente con pelos radicales. En contraste en plantas en aclimatación, conforme transcurrió el tiempo, las hojas presentan una cutícula más gruesa, más presencia de cera epicuticular, la formación de parénquima de empalizada con sus respectivos cloroplastos, estomas funcionales, un incipiente pulvínulo y haces vasculares debidamente formados. El cormo presentó evidentes yemas que posteriormente darán formación a los hijos laterales. El pseudotallo cada vez es más diferenciado, así como la formación y el desarrollo también adventicio de las raíces.

Palabras clave: fisiología, crecimiento, desarrollo, micropropagación.

ABSTRACT

A comparative morphological and anatomical study was carried out between banana plants cv. Gran naine (*Musa* AAA), in the micropropagation stage and in the acclimatization phase to determine differences in their anatomic and morphological structures. For this purpose, small samples of leaves, roots and corms were processed in both types of plant condition. To obtain the sections, the paraffin immersion method was used, as well as microtome sections for observation by light microscopy. Marked differences were found between the aspects analyzed in both stages. The leaves of plants established in *in vitro* culture have a very thin cuticle, almost no epicuticular wax and the rest of the tissues are still poorly differentiated. The stomata are mostly non-functional. There is no presence of a pulvinulus per se. A corm tissue was



observed, with small indications of lateral buds, as well as enveloping leaves from the corm indicating the later formation of a true pseudostem. The roots were very evident, adventitious in nature and occasionally with radical hairs. In contrast, in acclimatized plants, as time goes by, the leaves present a thicker cuticle, more presence of epicuticular wax, the formation of palisade parenchyma with its respective chloroplasts, functional stomata, an incipient pulvinulus and properly formed vascular bundles. The corm presents evident buds that will later give rise to the formation of lateral shoots. The pseudostem becomes increasingly more differentiated, as well as the formation and adventitious development of the roots.

Key words: physiology, growth, development, micropropagation.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, estudios sobre la anatomía y la morfología de plantas de banano son poco frecuentes. Asimismo, los existentes fueron realizados hace muchos años (Skuth, 1927, Riopel y Steeves, 1964, Sandoval, 1989). Los análisis ahora se fundamentan mayormente en técnicas celulares y moleculares. La anatomía estudia la parte interna y la morfología la forma externa de las plantas. El conocimiento anatómico y estructural de una planta es un punto fundamental para conocer mejor su funcionamiento y fisiología. Con dicho conocimiento sin duda, es posible tomar mejores decisiones de manejo en la producción de un cultivo (Sandoval *et al.*, 1994; Sandoval y Müller, 1999).

Cualquiera que sea la metodología de micropropagación, el objetivo principal es obtener un gran número de plantas aptas para su trasplante a suelo u otro sustrato (Subrahmanyeswary y Gantait, 2022; Uma *et al.*, 2023). Esta etapa es crítica y se le conoce como la fase de aclimatación o endurecimiento. Frecuentemente, una determinada especie se adapta de manera más favorable que otra. Los factores que influyen se deben investigar para mejorar el establecimiento y manejo de las plantas (Álvarez *et al.*, 2014).

Las plantas producidas *in vitro* crecen en un ambiente aséptico y su desarrollo requiere de una fuente de energía exógena (azúcar), es decir, son plantas heterótrofas, con un aparato fotosintético no diferenciado o ineficiente. Además, se desarrollan a alta humedad relativa y consecuentemente sus hojas carecen de una cutícula gruesa y de una adecuada capa de cera epicuticular. Asimismo, el parénquima en empalizada está poco desarrollado, con grandes espacios intercelulares y generalmente se observa baja densidad estomática. Estas características las hace muy susceptibles a la deshidratación. Así es necesario propiciarles condiciones fisiológicas adecuadas para

que en la etapa de aclimatación no haya mucha pérdida de plántulas (Donnelly y Vidaver, 1984 a; Donnelly y Vidaver, 1984 b; Donnelly *et al.*, 1985).

Por ello, durante la fase inicial de la aclimatación, se mantiene la humedad relativa casi del 100% mediante nebulización. No obstante, se debe tener cuidado para no incrementar el contenido de humedad del sustrato hasta saturación continua, impidiendo niveles convenientes de CO₂ y O₂. En cuartos de humidificación cerrados se mantiene una humedad relativa alta sin saturar al sustrato (Brainerd y Fuchigami, 1981). Las plantas provenientes de cultivo *in vitro* necesitan inicialmente de una intensidad lumínica baja; gradualmente la intensidad debe aumentarse. En el invernadero, la utilización de mallas de sombreo es frecuente; de acuerdo con su densidad, proporcionan determinado porcentaje de sombra (Álvarez *et al.*, 2014).

Las condiciones de cultivo *in vitro* afectan la anatomía de las plantas micropropagadas (Short *et al.*, 1984; Sutter y Langhans, 1979; Wetzstein y Sommer, 1982). Plantas provenientes de cultivo *in vitro* presentaron poca cera epicuticular en las hojas y una ineficiente conexión vascular entre la raíz y el vástago. Consecuentemente fueron vulnerables a marchitarse. Las hojas formadas en cultivo *in vitro* son solamente una forma transicional hasta que las hojas verdaderas hayan emergido.

De acuerdo con Flores (2013), el parénquima en empalizada comúnmente es un tipo especializado de tejido fotosintético, al estar los cloroplastos en una posición favorable con respecto a la luz. La falta de una diferenciación completa del parénquima en empalizada en hojas de plantas *in vitro* sugiere una capacidad fotosintética menor (Wetzstein y Sommer, 1982). Hay aspectos morfológicos y anatómicos que pueden influir positiva o negativamente durante la etapa de aclimatación. Hojas de plantas de *Musa* no micropropagadas mostraron una anatomía característica de la especie (Sandoval *et al.*, 1994).

El objetivo de la presente investigación fue, comparar y determinar diferencias en estructuras anatómicas y morfológicas de plantas de banano, *in vitro*, invernadero y vivero utilizando observaciones con microscopía de luz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Plantas *in vitro*

Para los análisis anatómicos y morfológicos se utilizaron plantas *in vitro* en fase de crecimiento y desarrollo. Estas fueron sacadas del recipiente de cultivo para lavar sus raíces. Posteriormente, fueron colocadas sobre papel absorbente. Cada parte de la planta fue cuidadosamente separada para realizar las observaciones.

Plantas en aclimatación

Varias plantas fueron liberadas de su cultivo aséptico y colocadas en condiciones controladas (temperatura entre los 23 y 25 °C, una humedad relativa del 85 % y un periodo de luz natural de 10 horas). Se sembraron en un sustrato de suelo estéril y fueron nutridas mediante la aplicación foliar semanal con una solución Hoagland (macro y microelementos); más quelato de hierro. Para el análisis histológico se tomaron muestras foliares el día de iniciar la transferencia a condiciones de invernadero y posteriormente cada mes hasta cumplirse un total de cinco meses.

Microscopía de luz

Se obtuvieron cortes y preparaciones microscópicas utilizando un micrótopo para seccionar segmentos de tejido inmersos en bloques de parafina. Se realizaron cortes transversales y longitudinales con un espesor de 15 a 50 micras. Las observaciones se realizaron en un microscopio Carl Zeiss, en diferentes aumentos (32X, 80X, 190X). Luego de seleccionar las mejores preparaciones correspondientes a cada parte de la planta en estudio, se realizó la descripción e interpretación de cada una de ellas. Las estructuras fueron visualizadas y dibujadas a mano, utilizando tinta china y una cámara lúcida (Carl Zeiss).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología y anatomía de raíces de plantas de banano *in vitro*

En las plantas de *Musa* micropropagadas la formación del sistema radical se produce rápidamente en el medio semisólido de Murashige y Skoog (1962) sin reguladores de crecimiento. Esto sugiere que el nivel endógeno de auxina es suficiente para estimular la rizogénesis, ya que la adición de auxinas en esta fase disminuye la formación de raíces y la presencia de citocininas la inhibe (Govenia *et al.*, 2018). Las raíces son delgadas, flexibles, con un diámetro de 2 a 3 mm y un largo que puede llegar a medir más de 150 mm. Estas raíces presentaron abundantes formaciones

apendiculares (pelos radicales), que disminuyeron en número o desaparecieron del todo si las raíces se encuentran dentro del agar.

En otras especies se ha observado algo similar e, incluso, ausencia total de pelos radicales, debido probablemente a la alta concentración de agua existente en el gelificante (Álvarez *et al.*, 2014).

Las raíces se originan principalmente de la parte basal del explante, frecuentemente en la zona de las bases de las vainas envolventes del pseudotallo. Casi siempre son de color blanquecino, en algunos casos de color café negruzco, especialmente en aquellas plantas con una permanencia en cultivo más allá de los 3 meses. Los ápices de las raíces son muy visibles; miden aproximadamente 2 mm y presentan una coloración cremosa. Se observa también a cierta distancia del ápice radical la formación de raíces secundarias, con un tamaño que oscila entre los 13 a 20 mm.

Cortes transversales de raíces de plantas *in vitro* permitieron observar que, dependiendo de su madurez, éstas pueden ser tetrarcas, pentarcas y hasta poliarcas (Figura 1). Estos resultados difieren de los encontrados por Riopel y Steevens (1964), quienes mencionaron que las raíces de *Musa* son todas poliarcas, con un número de cordones de xilema que varían desde los 28 a los 34 en las raíces más gruesas. La disposición poliarca es característica de las raíces adventicias en gran parte de las monocotiledóneas (Flores, 2013).

La rizodermis está formada de células pequeñas, con paredes no muy engrosadas. Se presenta a veces, en la parte más vieja, una ligera cutinización. Cortes transversales de raíces gruesas permitieron la observación de aerénquima en la parte de la corteza. Los espacios aeríferos son lisígenos y se sitúan a partir de varios estratos de células del parénquima cortical interno hacia afuera de la endodermis. En raíces jóvenes la endodermis consta de una capa de células muy uniformes, con muy poco engrosamiento, sin cutinización (Figura 1). En la parte interna de la endodermis existe un periciclo uniseriado (Figura 1), con células a veces bastante irregulares en tamaño. El origen de las raíces laterales en *Musa* es a partir del periciclo. El centro de la raíz no muestra engrosamiento de las paredes, como ocurre en raíces muy viejas en plantas de campo.

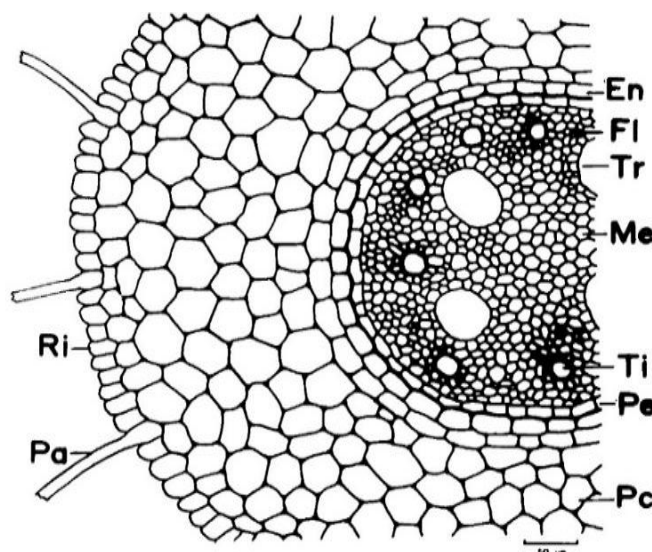


Figura 1. Corte transversal de una raíz poliarca casi madura de una planta in vitro desarrollada en medio semisólido (cv. Gran Enano). En: endodermis. Fl: floema. Me: médula aún sin lignificación. Pa: pelo absorbente. Pc: parénquima cortical. Pe: periciclo. Ri: rizodermis. Ti: traqueida del protoxilema. Tr: tráquea escalariforme del metaxilema en formación. Fuente: Sandoval (1989).

Secciones longitudinales del ápice de las raíces permitieron corroborar la presencia de una caliptra con un caliptrógeno bien formado (Figura 2). Se notó mucha actividad meristemática en el caliptrógeno, con las células de la caliptra desorganizándose luego hacia afuera. Las células localizadas directamente atrás y encima del caliptrógeno son pequeñas y sin vacúolo (Figura 2). En la caliptra, cerca de la punta, se encuentran células con granos de almidón, cuya función probable es de estatolitos o sensores de gravedad (Figura 2). Estudios en otro tipo de plantas confirman esta interpretación (Flores, 2013). En las raíces que se orientan hacia arriba en el frasco de cultivo (presentan gran cantidad de pelos radicales) también se observó presencia de granos de almidón, pequeños y aglutinados alrededor del núcleo. Debido a la orientación de las raíces en las que se encuentran probablemente no funcionan como estatolitos.

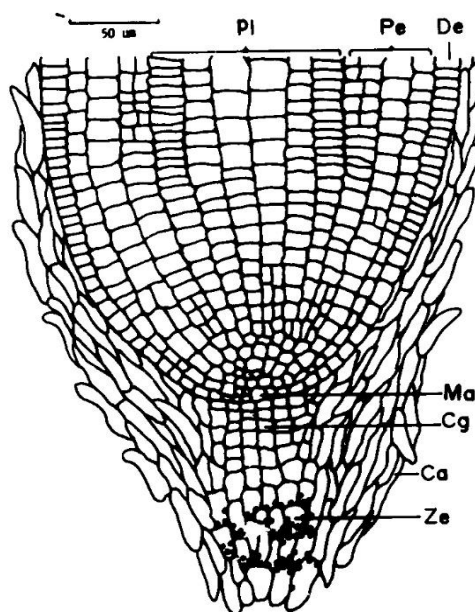


Figura 2. Sección longitudinal del ápice de una raíz de una planta *in vitro* (cv. 'Gran enano').
Ca: caliptra. Cg: caliptrógeno. De: dermatógeno. Ma: meristema. Pe: periblema. Pl: pleroma. Ze: zona de estatolitos. Fuente: Sandoval (1989).

Morfología y anatomía del cormo de plantas de banano en fase *in vitro*

El cormo (tallo subterráneo y órgano de reserva) desarrolla hojas en su parte superior y raíces adventicias en la inferior. El cormo es de color café en su superficie y de color cremoso internamente. Al quitar las vainas foliares circundantes se localiza el ápice vegetativo, de color blanco y de superficie lisa. Su tamaño aproximado es de 0.5 a 1 mm.

Mediante cortes longitudinales y transversales, se notó la región cortical y el cilindro central, donde se observó gran cantidad de granos de almidón dispersos en el tejido parenquimatoso. La visualización del almidón fue evidente al colocar gotas del colorante lugol de tejido fresco. Muy evidente también es el recorrido sinuoso e irregular de los haces vasculares. Esta disposición irregular de haces en el cormo ya ha sido observada por otros investigadores en plantas en condiciones *in vitro* (Soto, 2014). El meristemo apical es típico, con su domo y los respectivos primordios foliares rodeándolo.

Morfología y anatomía de hojas de banano en fase *in vitro*

Plantas con 45 días de permanencia en cultivo, en un medio para crecimiento (Murashigue y Skoog, 1962), presentan un promedio de 5 a 6 hojas. El tamaño de éstas

oscila desde 6 mm en su parte más ancha, hasta 20 mm de largo desde la base hasta su ápice en las hojas más pequeñas. Las hojas más desarrolladas pueden alcanzar unos 15 mm en su parte más ancha y más de 50 mm de largo. El ancho del semilimbo derecho es igual al del semilimbo izquierdo. En general, las hojas son lanceoladas, de color verde, el cual es más acentuado por el haz que, por el envés, que es ligeramente glauco, de superficie brillante. Sin embargo, la forma de la hoja depende mucho de la concentración de citocinina en el medio.

La vena central es conspicua en ambas caras de la hoja, siendo más evidente por la cara abaxial, (semicircular) y casi lisa por el haz. A partir de la nervadura central se inician las venas laterales. Estas, en la base de la hoja, toman una posición curva y ascendente (ángulo 25- 30°) hasta el centro del limbo y luego, a partir de las 2/3 partes hacia el ápice, continúan en forma casi paralela.

El borde de las hojas no presenta cloroplastos, no posee antocianos y mide aproximadamente 1 mm de ancho. La lámina foliar termina en un apéndice filiforme, vivo y persistente, que mide aproximadamente 3 mm de longitud en las hojas más desarrolladas. La parte basal de las hojas es simétrica, indistintamente del genoma. No hay un pecíolo debidamente diferenciado y en consecuencia las láminas foliares tienden a traslaparse con las vainas que forman el incipiente pseudotallo. A 1.5 cm de la base de la planta (corno), el conjunto de las vainas imbricadas (posterior pseudotallo) posee un diámetro de 4 a 6 mm.

Existe en estas plantas presencia de látex en las vainas y también en los limbos desarrollados, especialmente en la región de la vena central. Cortes transversales de hojas de plantas cultivadas *in vitro* permitieron observar que la anatomía es la típica para una hoja de monocotiledóneas, pero con presencia de ciertas particularidades (Figura 3). La estructura de las hojas *in vitro* es semejante a la presentada por hojas de plántulas provenientes de semilla (*Musa balbisiana*), en sus primeros estadios de desarrollo. La cutícula es muy delgada y casi no presenta cera epicuticular. Resultados similares han sido mencionados por otros autores en otras especies (Grou, 1975; Grou y Astom, 1977; Sutter y Langhans, 1979). No se observó en ninguna hoja la presencia de células correspondientes a una banda pulvinular.

No se observaron bandas de esclerénquima rodeando a los haces vasculares. En general el tamaño de las células en los tejidos *in vitro* es más pequeño que en plantas crecidas en el invernadero y más aún en el campo. Sin embargo, hay que considerar que la permanencia *in vitro* está confiriendo una condición de miniaturización a las

plantas. De acuerdo con lo observado, existe una relación de proporcionalidad en los tejidos presentes.

Las epidermis son uniestratificadas y delgadas. Sus células son sinuosas; a veces irregulares en su tamaño (Figura 3). La orientación de las células epidermales sigue la orientación de las venas laterales. Tanto en el lado abaxial como adaxial están constituidas por células alargadas (Figura 3). La presencia de cristales de diversas formas es evidente en sus células. La hipodermis consta de células más grandes cuya orientación es perpendicular a las epidermales. Encima de los haces vasculares su tamaño es reducido y su forma es cuadrada. El parénquima en empalizada está restringido a una sola capa de células, semiredondas (aproximadamente de 17 μm de diámetro), con abundantes cloroplastos de un diámetro promedio de 8 μm . Este tejido, sin embargo, no está bien diferenciado.

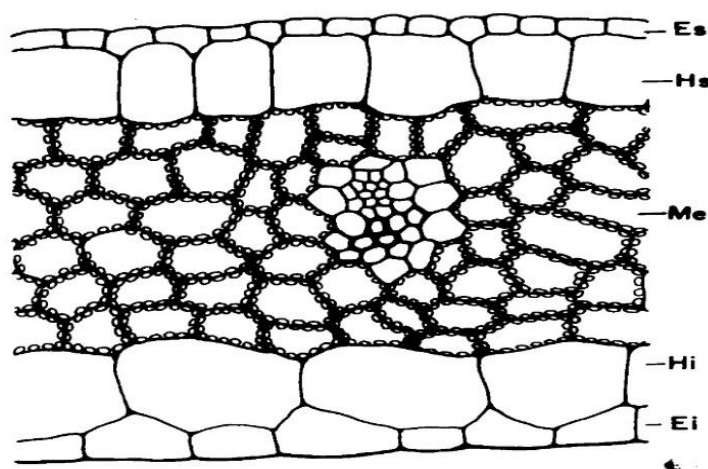


Figura 3. Corte transversal de una hoja completamente desarrollada de una planta *in vitro* (cv. 'Gran enano'). Ei: epidermis inferior. Es: epidermis superior. Hi: hipodermis inferior. Hs: hipodermis superior. Me: mesófilo con parénquima uniforme que no muestra subdivisión en parénquima en empalizada y esponjoso. Fuente: Sandoval (1989).

Las hojas *in vitro* son anfiestomáticas, con una mayor cantidad de estomas en el lado abaxial (Figura 4). El tamaño promedio de las estomas para el cv. 'Gran Enano' en el lado abaxial fue de 38 μm de largo y 15 μm de ancho. Las células oclusivas están rodeadas por un grupo de cuatro células subsidiarias. En su mayoría los estomas presentan su ostiolo parcial o completamente cerrado, lo cual indica poca o ninguna funcionalidad. Los estomas están presentes también sobre la vena central.

Las células parenquimáticas de la vaina poseen inclusiones tipo rafidios. A veces se visualizan dos paquetes de rafidios dentro de un mismo espacio aerífero. Estas inclusiones posiblemente son residuos finales de los procesos metabólicos celulares (Flores, 2013). En *Musa* se ha comprobado que estas inclusiones son en su mayoría de oxalato de calcio (Bruni *et al.*, 1982).

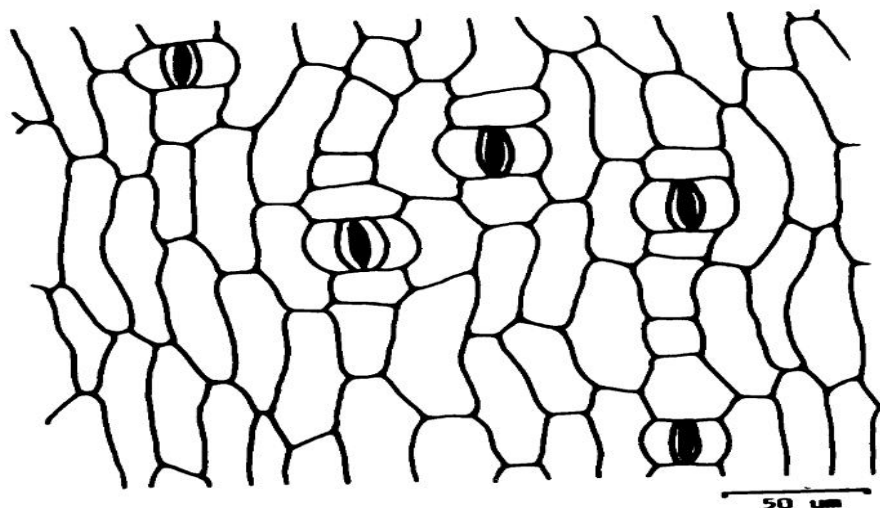


Figura 4. Forma de las células epidermales y distribución de estomas en el envés de una hoja *in vitro* (cv. 'Gran enano'). Fuente: Sandoval (1989).

Morfología y anatomía de raíces en fase de aclimatación

Hay importantes diferencias entre plantas desarrolladas *in vitro* y las que crecen en condiciones de invernadero. En promedio una planta después de permanecer dos meses en aclimatación presenta 7 raíces gruesas, con un diámetro promedio, en su parte proximal, de 4 mm y de 2 mm en su parte distal. Las raíces gruesas tienen menos raíces secundarias en comparación con las más delgadas. Estas, de menor diámetro, conforman la mayor parte del sistema radical y miden de 1 a 2 mm de diámetro en su parte posterior y anterior respectivamente y tienen gran cantidad de raíces secundarias y terciarias. Este tipo de raíces secundarias ramificadas no se observa en plantas *in vitro*. Todas las raíces son adventicias, en forma de cordón, flexibles y blancas cuando están recién formadas. Normalmente algunas adquieren luego una coloración café. Las raíces principales más largas miden aproximadamente 30 cm de largo. Las raíces secundarias miden de 2 a 2.5 cm de largo en raíces gruesas y hasta más de 10 cm de largo en raíces más delgadas; las terciarias ocasionalmente sobrepasan en su largo 1 cm.

El estudio anatómico permitió observar que todas las raíces principales son poliarcas. La endodermis es ligeramente cutinizada y con poco engrosamiento. El periciclo es uniseriado y está constituido por células relativamente grandes, de mayor tamaño que las células de la endodermis. En la corteza son evidentes; espacios aeríferos lisígenos que abarcan una longitud radial de 4 a 6 células.

La caliptra es grande. En las células del ápice se observaron gránulos de almidón que posiblemente tienen función de estatolitos. Al provocar una reacción con yodo, macroscópicamente fue posible determinar una zona de coloración azul morada en la punta del ápice. El espesor de la caliptra, a la altura del meristema, es de unas seis hileras de células alargadas y hialinas. El pleroma consta de unas 30 hileras de células a lo ancho y el periblema unas 25 hileras de células, en diferencia con raíces de plantas *in vitro*, donde el periblema y el pleroma están constituidos por menor número de hileras de células.

Morfología y anatomía del cormo en fase de aclimatación

El cormo desarrolla en la parte superior follaje. Entre las bases foliares circundantes se localiza el punto vegetativo que en plantas con 2 a 3 meses de aclimatación mide aproximadamente 5 mm de diámetro. En plantas con 5 y 6 meses de aclimatación se empiezan a notar yemas que salen opuestas a la axila de la hoja (vaina). Al realizar un corte longitudinal se distingue la corteza y el cilindro central, lo mismo que cicatrices de haces vasculares. Después de realizar este tipo de cortes se evidenció una rápida oxidación de los polifenoles. Cortes transversales permitieron observar una proporción grande de parénquima amiláceo y el recorrido intrincado de los hacecillos vasculares.

Morfología y anatomía de hojas en fase de aclimatación

Hojas de una planta de *Musa* con 15 días de aclimatación presentan todavía una anatomía similar a hojas *in vitro*. Wardle *et al.* (1983) sugirieron que las hojas formadas *in vitro* podrían tener funcionalidad como órganos de reserva. Estos autores encontraron que hojas de plantas precultivadas *in vitro* se desarrollaron lentamente y luego murieron. En contraste, las hojas formadas *ex vitro* se desarrollaron rápidamente. Las hojas de plantas de *Musa* provenientes de cultivo *in vitro* usualmente no mueren, pero tampoco se desarrollan más. A los 7 días aproximadamente se observa la emergencia de la primera hoja producida en condiciones de aclimatación.

En hojas de plantas de *Musa* con dos meses en aclimatación se observó la presencia de gotas de agua de riego sobre el limbo, sugiriendo la presencia de ceras sobre la superficie de la cutícula. Contrariamente a lo observado en hojas *in vitro* la cera epicuticular es más evidente, sobre todo en la cara abaxial. La cera no presenta una forma definida y está distribuida por toda la superficie. En este caso, la cantidad y la estructura de la cera epicuticular le confiere mayor impermeabilidad a la superficie epidérmica. La presencia de cera epicuticular aumentó en forma gradual según la formación de nuevas hojas. Mientras que en hojas de plantas *in vitro* se observaron pequeños depósitos de cera, ésta fue más notoria en plantas en aclimatación. Estudios anteriores (Freeman y Turner, 1985) mostraron que hojas de plantas de *Musa* desarrolladas en el campo, presentaron un 60 % más de cera epicuticular en comparación con hojas de plantas crecidas en invernadero. Además, la forma y la cantidad de cera varió entre representantes con genoma A y B.

La poca cantidad de cera epicuticular observada en hojas de plantas *in vitro* puede deberse a las condiciones de alta humedad relativa y baja intensidad lumínica. Sutter y Langhans (1979) opinaron que, además de la presencia de reguladores de crecimiento en el medio, las altas temperaturas podrían afectar la producción de cera. Sin embargo, no todas las especies muestran reducida cera epicuticular *in vitro* y en estos casos la supervivencia al trasplante no siempre se correlaciona con el aumento de cera *ex vitro*. Los casos de mortalidad posiblemente se deban a una ineffectiva función estomática (Sutter y Langhans, 1979).

La falta de cera epicuticular hace que las plantas, después del trasplante, pierdan agua más rápidamente. Sutter y Langhans (1979), señalaron la importancia de la cera epicuticular en hojas de *Vitis vinifera*, donde ésta fue una efectiva barrera para el movimiento del agua a través de la cutícula, previniendo así la desecación.

En plantas de invernadero la cera epicuticular no obstruye estomas, situación que se observa en hojas de plantas en el campo, lo cual podría afectar negativamente al intercambio gaseoso (Freeman y Turner, 1985). La cera se forma a partir de la región periclinal de la cutícula y su síntesis ocurre en las células epidermales, pasando ésta a través de la cutícula hasta su superficie.

En hojas de *Musa* de plantas con tres meses de permanencia en aclimatación, las hojas todavía son de apariencia lanceolada. Internamente se presentan cordones de esclerenquima localizados alrededor de los haces vasculares. El parénquima en empalizada consta normalmente de un estrato de células alargadas seguido de otro, de

células casi isodiamétricas. En el parénquima esponjoso se observan muchos espacios aeríferos. Sin embargo, todavía no se nota una compartimentalización como es el caso en hojas de plantas crecidas en el campo (Sandoval, 1989).

En *Musa* los estomas en su mayoría están orientados en filas longitudinales secuencia basípeta; hay mayor número en el envés que en la haz. En su mayor parte los estomas son funcionales y tienen cuatro células subsidiarias a su alrededor. Los estomas coinciden con una cavidad subestomática en el mesófilo. En hojas formadas después de 3 a 4 meses de trasplante se nota también el inicio de una compartimentalización en el parénquima. Es notoria la presencia de rafidios y éstos aparecen en hojas con 5 meses de aclimatación debajo de las células del parénquima en empalizada (Figura 5).

A los 5 meses es evidente que las células de la hipodermis son mucho más grandes que las de la epidermis correspondiente. Las paredes de las células epidérmicas no son sinuosas. La cutícula está más desarrollada (Figura 5). Esta diferenciación de la cutícula también ha sido mencionada como una característica importante por otros autores en otras especies (Short *et al.*, 1984; Wetzstein y Sommer, 1982).

El parénquima en empalizada consta en algunos casos de dos estratos de células alargadas (cerca de las venas) y en otros de un estrato de células alargadas, seguido por un segundo de células casi isodiamétricas. Tres tipos de haces vasculares pueden distinguirse: primarios, secundarios y terciarios. Los primarios se extienden hasta las epidermis, pero los secundarios y los terciarios no, al tener una capa de células de clorénquima entre el haz y la hipodermis. En los haces vasculares sencillos el esclerénquima se encuentra en menor cantidad que en haces de mayor tamaño. En los primarios, el esclerénquima está muy bien definido, principalmente en el lado adaxial de la hoja y consta de 6 a 12 células. Las cavidades aeríferas en el centro de la hoja son muy pronunciadas y ya se nota un incipiente pulvínulo. Posteriormente dicho pulvínulo se ubica completamente formado a lo largo de la vena central.

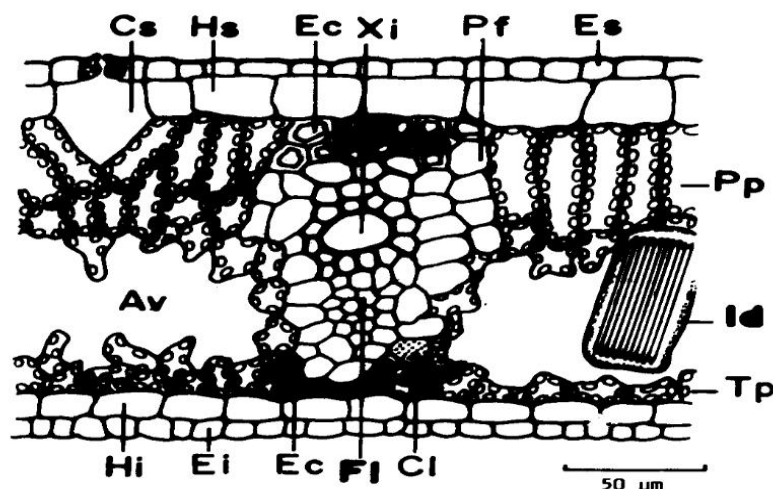


Figura 5. Corte transversal de una hoja en aclimatación con un haz vascular más desarrollado e idioblasto con rafidios. Al: alvéolo. Cl: canal laticífero. Cs: cavidad subestomática. Ei: epidermis inferior. Es: epidermis superior. Ec: esclerenquima. Fl: floema. Hi: hipodermis inferior. Hs: hipodermis superior. Id: idioblasto con rafideos. Pf: parénquima fascicular. Pp: parénquima en empalizada. Tp: tapete de parénquima esponjoso. Xi: xilema. Fuente: Sandoval (1989).

CONCLUSIONES

Las plantas *in vitro* al encontrarse en un cuarto de crecimiento con ambiente controlado (medio de cultivo que suple de nutrimentos y energía, fotoperiodo, temperatura y humedad relativa), hacen que morfológica y anatómicamente sus órganos y tejidos estén presentes y predeterminados, pero son poco o no funcionales. Por tal razón, son factores importantes que considerar, cuando dichos materiales se dispongan a un traslado a condiciones externas en un invernadero o en un vivero.

Durante el período de aclimatación o endurecimiento de las plantas, poco a poco conforme la planta crece y se desarrolla, se van diferenciando anatómicamente sus tejidos y órganos hasta tener la capacidad fisiológica para poder ser trasplantadas a condiciones de campo.

REFERENCIAS

1. Álvarez, A.; Rosales, B. Arredondo, J. 2014. Micropropagación de plantas. M.S.A. Editorial Trillas S. A. 586 p.
2. Brainerd, K.; Fuchigami, L. 1981. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. Journal of the American Society for Horticultural Science. 106 (4) 515-518.

3. Bruni, A.; Dall'olio, G.; Tosi, B. 1982. Study of the development of raphide forming cells in *Musa paradisiaca* using fluorescence microscopy. *New Phytologist* 92 (4): 581-587.
4. Donnelly, D.; Vidaver, W. (a). 1984. Leaf anatomy of red raspberry transferred from culture to soil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 109:172-176.
5. Donnelly, D.; Vidaver, W. (b). 1984. Pigment content and gas exchange of red raspberry *in vitro* and ex vitro. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 109:177-181.
6. Donnelly, D Vidaver, W.; Lee, K. 1985. The anatomy of tissue cultured red raspberry prior to and after transfer to soil. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 4:43-50.
7. Flores, E. 2013 La planta estructura y función; Editorial Tecnológica de Costa Rica. Cartago, Costa Rica, 884 p.
8. Freeman, B.; Turner, D.W. 1985. The epicuticular waxes on the organs of different varieties of banana (*Musa* spp.) differ in form, chemistry and concentration. *Australian Journal of Botany*.
9. Govena, M., Hajare, S., Benti, G. 2018. *In vitro* root development system in two popular cultivares of banana. *International Journal of current Microbiology and Applied Sciences*. 7 (1): 3583-3591. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.420>
10. Grout, B. 1975. Wax development on leaf surfaces of *Brassica oleracea* var. currawong regenerated from meristem culture. *Plant Science Letters* 5: 401-405.
11. Grout, B.; Aston, M. 1977. Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture. I. Waver loss and water transfer related to changes in leaf wax and to xylem regeneration. *Horticultural Resources* 17:1-7.
12. Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
13. Riopel, J; Steeves, J. 1964. Studies on the roots a. of *Musa acuminata* cv. Gros Michel. 1. the anatomy and development of main roots. *Annals of botany* 28(111): 475-490.
14. Sandoval, J. 1989. Estudio de la anatomía y morfología vegetativas de plantas de *Musa in vitro* en condiciones de aclimatación y en el campo. Tesis Magister Scientiae. CATIE. Costa Rica. 178 p.
15. Sandoval, J., Müller, L., 1999. Anatomía y morfología de la planta de banano. *CORBANA* 24 (51): 43-60.
16. Sandoval, J., Müller, L., Weberling, F. 1994. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown *in vitro* and during hardening as compared to field – grown plants. *Fruits* vol 49 (1): 37-46.
17. Short, K; Grout, B; Sumpkins, I. 1984. *In vitro* physiology and acclimatization of aseptically cultured plantlets. In.: *Proceedings Internacional Symposium Plant Tissue and Cell Culture Application to Crop Improvement*. Olomouc. Czechoslovakia (24-29 september). Edited by F.J. Novak, L. Havel, J. Dolezel. Czechoslovak Academy of Sciences. P. 475-486.
18. Skuth, A.F. 1927. Anatomy of leaf of banana, *Musa sapientum* L. var. hort. 'Gros Michel'. *Botanical Gazette* 84:337-339.
19. Soto, M. 2014 Conceptos básicos. Descripción botánica. Editorial Tecnológica de Costa Rica. Cartago. Costa Rica. Pp. 45-128.
20. Subrahmanyeswari, T. ; Gantait, S. 2022. Biotechnology of banana (*Musa* spp): multi-dimensional progress and prospect of in vitro-mediated system. *Appl Microbiol Biotechnol* 106: 3923-3947. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11973-4>
21. Sutter, E.; Langhans, R. 1979. Epicuticular wax formation on carnation plantlets regenerated from shoot tip culture. *Journal of the American of Society for Horticultural Science* 104 (4): 493-496.

-
22. Uma, S.; Karhic, R.; Kalpana, S.; Backiyarani, S.; Kumaravel, M.; Saranya, S.; Saraswathi, M.; Durai, P. 2023. An efficient embryogenic cell suspension culture system through secondary somatic embryogenesis and regeneration of true-to-type plants in banana cv. Sabri (silk subgroup AAB). Plant Cell Tissue and Organ Culture. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02570-y>
 23. Wardle, K. Dobbs, Short, K. 1983. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. Journal of the American Society for Horticultural Science 108:386-389.
 24. Wetzstein, H.; Sommer, H. 1982. Leaf anatomy of tissue cultured *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae) during acclimatization. American Journal of Botany 69 (10):1579-1586.