



“Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Pasantía

**Experiencia en la producción de vitroplantas de
plátano (*Musa sp.*) a partir de ápices
meristemáticos en el CNCT- INTA, 2020**

Autora

Br. Verónica Gabriela Zelaya

Asesores

MSc. Heedy Guadalupe Corea Narváez

Ing. Luz María Flores Guzmán

**Managua, Nicaragua
Diciembre, 2021**



“Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Pasantía

**Experiencia en la producción de vitroplantas
de plátano (*Musa* sp.) a partir de ápices
meristemáticos en el CNCT-INTA, 2020**

Autora

Br. Verónica Gabriela Zelaya

Asesores

MSc. Heeidy Guadalupe Corea Narváez

Ing. Luz María Flores Guzmán

Presentado a la consideración del honorable comité
evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniera en Sistemas de Protección Agrícola y Forestal

**Managua, Nicaragua
Diciembre, 2021**

Hoja de aprobación del comité evaluador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero en Sistemas de Protección Agrícola y Forestal

Miembros del comité evaluador

Presidente (Grado académico
y nombre)

Secretario (Grado académico y
nombre)

Vocal (Grado académico y nombre)

Lugar y Fecha: _____

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por acompañarme, por darme sabiduría para superar cada obstáculo que se me presenta en el camino.

A mi madre Aurora del Carmen Zelaya Guzmán q.e.p.d que siempre me demostró su amor y apoyo incondicional, aunque ya no estas físicamente siento que estás conmigo y sé que nos faltaron muchas cosas por vivir, estoy segura que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí, te amaré siempre madre de mi corazón.

A mi novio Róger José Gómez Mendoza gracias por motivarme a que todo se puede lograr.

A mis sobrinos que adoro con toda el alma Luis Antonio Bermúdez García, María Auxiliadora Castellón García y Georgia Massiel Noguera García. A mis hermanas y amiga de la infancia Daysi Medrano. A mi madrina Deyanira Galeano por haberme apoyado durante mis estudios universitarios.

Br. Verónica Gabriela Zelaya

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme permitido llegar con vida, salud y fortaleza para cumplir con esta meta.

A mi asesora MSc. Heeidy Guadalupe Corea Narváez por apoyarme en la elaboración de la información, por su tiempo y paciencia.

A mi asesora institucional Ing. Luz María Flores por la oportunidad de haber desarrollado la pasantía en el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos.

A la Universidad Nacional Agraria por haberme brindado la oportunidad de culminar mi carrera, gracias a cada docente que formó parte de este proceso integral de formación profesional.

Agradezco al Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA) por la oportunidad de realizar mis pasantías en el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos ubicado en el CNIA en especial a la Lic. Irenia Urrutia quien atendió mi solicitud amablemente.

Br. Verónica Gabriela Zelaya

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE FIGURA	iii
ÍNDICE DE ANEXOS	iv
RESUMEN EJECUTIVO	v
EXECUTIVE ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. CARACTERIZACIÓN DE LA INSTITUCIÓN	4
3.1. Antecedentes del INTA	4
3.2. Centro Nacional de Cultivo de Tejidos	4
3.2.1. Misión CNCT	5
3.2.2. Visión del CNCT	6
3.2.3. Objetivos generales del CNCT	6
3.2.4. Estructura organizativa del Centro Nacional de Cultivo de Tejidos	6
3.2.5. Recursos Financieros, infraestructura y equipamiento.	7
IV. FUNCIONES EN EL ÁREA DE TRABAJO	8
4.1. Funciones desarrolladas en el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos mayo - noviembre 2020.	8
V. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DESARROLLADO	9
5.1. Mondado de cormos de plátanos para TRAS	9
5.2. Establecimiento de explantes de plátano para dar inicio a la etapa <i>in vitro</i>	9
5.2.1. Cosecha de tejido vegetal de plátano en canteros para dar inicio a la etapa <i>in vitro</i>	9
5.2.2. Primera reducción de plantas de plátano para establecimiento <i>in vitro</i>	10
5.2.3. Segunda reducción de explantes de plátano para establecimiento <i>in vitro</i>	10
5.2.4. Tercera reducción de explantes de plátano para establecimiento <i>in vitro</i> en áreas asépticas del laboratorio del CNCT	12
5.2.5. Cuarta reducción de explantes de plátano para establecimiento <i>in vitro</i> en áreas aséptica del laboratorio del CNCT	13
5.2.6. Desinfección de explantes de plátano en el área de transferencia de tejidos en el laboratorio del CNCT	13
5.2.7. Establecimiento 0 - 1 de ápices meristemáticos de plátano en cámara de flujo laminar	14

5.3.	Propagación de tejido <i>in vitro</i> de plátano etapa 0 - 2	14
5.4.	Multiplicaciones de vitroplantas de plátano en el CNCT	15
5.5.	Enraizamiento de vitroplantas de plátano en el CNCT	15
5.6.	Lavado, selección y siembra de vitroplantas de plátano en bandejas en el CNCT	16
VI.	RESULTADOS OBTENIDOS	17
VII.	CONCLUSIONES	18
VIII.	LECCIONES APRENDIDAS	19
IX.	RECOMENDACIONES	20
X.	LITERATURA CITADA	21
XI.	ANEXOS	22

ÍNDICE DE FIGURA

FIGURA		PÁGINA
1	Estructura organizativa del Centro Nacional de Cultivos de Tejidos	6
2	a) Separación de capas de pseudotallo de plátano; b) Incisión en x para eliminar dominancia apical e inducir a brotes de yemas axilares de plátano	9
3	Cosechas de plantas de plátano en canteros élités del Centro Nacional de Cultivo de Tejidos	10
4	Primera reducción de explantes de plátano y desinfectados con cloro al 1.5%	10
5	Materiales para segunda reducción de explantes de plátano	11
6	Segunda reducción de explantes de plátano para establecimiento <i>in vitro</i>	11
7	Materiales utilizados para tercera reducción explantes de plátano en áreas asépticas en el laboratorio del CNCT	12
8	a) Tercera reducción de explantes de plátano; b) desinfección de explantes de plátano con alcohol al 75% por 1 minuto	12
9	a) Lavado de explante de plátano con agua estéril; b) desinfección de explante de plátano con cloro al 2% más tween en el limpiador ultrasónico	13
10	a) Cámara de flujo laminar en áreas de transferencia de tejidos b) desinfección explante de plátano con cloro al 1% mas tween 20 en cámara de flujo laminar	13
11	Establecimiento <i>in vitro</i> de explantes de plátano en áreas de transferencias del laboratorio del CNCT	14
12	a) Plantas <i>in vitro</i> de plátano después de un mes de su establecimiento; b) establecimiento <i>in vitro</i> de plátano etapa 0-2	15
13	a) Primera multiplicación de vitroplantas de plátano; b) siembra de vitroplantas de plátano para el desarrollo de nuevos brotes.	15
14	a) Aplicación de medio líquido de enraizamiento a frascos con vitroplantas de plátano; b) frascos de vitroplantas con medio de enraizamiento	16
15	a) Lavado de vitroplantas de plátano con agua destilada; b) Eliminación de restos de medio de cultivo de las vitroplantas de plátano; c) Selección de vitroplantas de plátano por tamaño grande, mediana y pequeña	16

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
1 Siembra de vitroplantas de plátano en bandejas con sustrato para desarrollo y endurecimiento en viveros	22

RESUMEN EJECUTIVO

Este informe presenta las actividades realizadas durante el periodo de pasantía de mayo – noviembre 2020 en el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos (CNCT) del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). El CNCT tiene como objetivo fortalecer la capacidad tecnológica de cultivo *in vitro* de plátano para incrementar la productividad a nivel nacional. Se realizó el proceso de producción *in vitro* que inicia con la selección de plantas madres, siembra de explantes en medio artificial de crecimiento, multiplicaciones de explantes *in vitro*, enraizamiento de vitroplantas hasta su siembra en bandejas. Como resultados se mondarón 580 cormos de plátano, establecimiento de 2,042 explantes meristemáticos *in vitro*, multiplicación de 6,989 frascos con vitroplantas de plátano, se enraizaron 8,769 frascos con vitroplantas de plátano. Se adquirió conocimiento, experiencia y habilidades para desarrollar el proceso de producción en el proceso *in vitro* de cinco variedades de plátano: Cuerno Enano, Cuerno Gigante, Cemsa^{3/4}, Hawaiano y Gran enano provenientes de plantas élites de plátano, siguiendo el protocolo establecido por el CNCT.

Palabras clave: Explantes, cultivo *in vitro*, ápices meristemáticos, pasantía

EXECUTIVE ABSTRACT

This report presents the activities carried out during the internship period from May -November 2020 at the National Center for Tissue Cultivation (CNCT) of the Nicaraguan Institute of Agricultural Technology (INTA). The objective of the CNCT is to strengthen the technological capacity for in vitro plantain cultivation to increase productivity at the national level. The in vitro production process was carried out, which begins with the selection of mother plants, planting of explants in artificial growth medium, multiplications of explants in vitro, rooting of vitro plants until their sowing in trays. As a result, 580 banana corms were peeled, 2,042 meristematic explants were established in vitro, 6,989 flasks with banana vitroplants were multiplied, 8,769 flasks were rooted with banana vitroplants. Knowledge, experience and skills were acquired to develop the production process in the in vitro process of five varieties of banana: Dwarf Horn, Giant Horn, Cemsa ^{3/4}, Hawaiian and Great Dwarf from elite banana plants, following the established protocol by the CNCT.

Keywords: explants, *in vitro*, meristematic apex, fellowship.

I. INTRODUCCIÓN

En Nicaragua se construyó en el 2018 un laboratorio especializado en propagación de cultivos de tejidos vegetales de plátano que lleva por nombre Centro Nacional de Cultivos de Tejidos (CNCT), ubicado en el Centro Nacional de Investigación Agropecuaria (INTA-CNIA) en el kilómetro 14 de la carretera norte, a 2 km al sur de la capital, la construcción de este centro se logró con la cooperación de la República de China (Taiwán) para el desarrollo del proyecto que lleva por nombre “Proyecto de Desarrollo del Cultivo de Plátano en Nicaragua”. Este Centro está considerado el más grande y mejor equipado de toda la región centroamericana. (El 19 Digital, 2018).

El Centro Nacional de Cultivo de Tejidos es una obra que tiene una inversión \$ 1.2 millones de dólares. El laboratorio cuenta con equipos de alta tecnología para la producción de vitroplantas, para su manejo en viveros cuenta con invernaderos para la aclimatización de las plántulas, el objetivo de esta obra es producir y garantizar plantas sanas, que permitan a los pequeños y medianos productores cultivar plátano que les generen mayor productividad y calidad. El CNCT tiene como meta producir 1.6 millones de plántulas por año (El 19 Digital, 2018). De esta manera se reducirá las importaciones de semilla *in vitro* de plátanos logrando en un futuro incrementar la capacidad de exportación de este rubro y de esta forma se pretende aumentar la calidad, productividad y competitividad de la producción de plátano a nivel nacional (Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria, INTA, 2018).

El CNCT actualmente multiplica cinco variedades de plátano éstas son: Cuerno Enano, Cuerno Gigante, Cemsa $\frac{3}{4}$, Hawaiano y Gran Enano, presentan una mayor demanda de producción y consumo en el país. Para los productores de las diferentes regiones del país las plantas están disponibles en cuatro presentaciones: raíz desnuda, en bandeja, en bolsas de 4x4 y bolsas de 6x8. (El 19 Digital, 2019).

El CNCT dispone de cuatro invernaderos para la aclimatización de plantas de plátano, tienen la capacidad para aclimatar más de 2 millones y medio de plantas al año permitiendo a los productores contar con plantas sanas de mejor calidad. Poseen un invernadero en Posoltega municipio de León, uno en la isla de Ometepe en Moyogalpa municipio de Rivas (El 19 Digital, 2019). En Nicaragua se prevé en un futuro garantizar la producción de vitroplantas de las diferentes variedades de plátano que tienen mayor demanda de consumo. El inicio y desarrollo

de la producción de vitroplantas se logró gracias al intercambio de experiencias y conocimientos entre los especialistas de la Misión Técnica de Taiwán y la experiencia de técnicos INTA, este intercambio de experiencia permitió capacitar a productores de diferentes zonas del país en el uso de herramientas tecnológicas en el manejo agronómico de vitroplantas de plátano que le permitirá tener una mayor productividad en sus parcelas de producción (El 19 Digital, 2020).

El CNCT selecciona en el campo material élite con buena sanidad y de parcelas altamente productivas para ser establecido y multiplicado en el laboratorio del CNCT con todas las medidas asépticas para obtener un material de buena calidad y así garantizar la producción de plátanos todo el año. Este fue un proyecto desarrollado bajo la cooperación de la Embajada de China (Taiwán), en coordinación con el Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), Ministerio de Economía Familiar, Comunitaria, Cooperativa y Asociativa (MEFCCA), y el apoyo de expertos de la Universidad Nacional Agraria (UNA).

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Explicar la experiencia en la producción de vitroplantas de plátano (*Musa* sp.) a partir de ápices meristemáticos en el CNCT- INTA 2020.

2.2. Objetivos específicos

- Describir el proceso de establecimiento, multiplicación, enraizamiento y siembra de cinco variedades de plátano para la producción masiva de vitroplantas a partir de ápices meristemáticos.
- Mencionar las actividades desarrolladas en el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos en la producción masiva de vitroplantas de plátano.

III. CARACTERIZACIÓN DE LA INSTITUCIÓN

3.1. Antecedentes del INTA

El INTA fue creado en 1993 por decreto No. 2293, y publicado en la Gaceta # 61 del 26 de marzo del mismo año. Es una institución del poder ejecutivo y miembro del gabinete de la producción del gobierno. En su marco de fortalecimiento tiene un modelo de desarrollo agropecuario donde se proponen a reorientar estrategias de trabajo, desarrollo de investigaciones e innovación con el fin de incrementar la productividad principalmente de pequeños y medianos productores/as de nuestro país (La Gaceta, 1993).

El INTA realiza investigaciones para proveer la base científica técnica a los sistemas productivos de desarrollo agropecuario. Como institución científica tiene una alta responsabilidad con el sector agropecuario, teniendo en cuenta las necesidades de los productores individuales y colectivos del país. Tiene una larga lista de publicaciones, manuales, instructivos, boletines, plegables e información relacionada con su amplio marco de acción (INTA, 2019).

La institución ha trabajado en conjunto con diferentes organizaciones no estatales en diferentes proyectos que van enfocados en el desarrollo de herramientas que den respuesta a la solución de alguna problemática del sector agropecuario para beneficio de los productores de las diferentes regiones del país. Misión Técnica de Taiwán ha patrocinado la ejecución de diferentes proyectos de desarrollo y tecnologías para el sector agrícola, uno de los proyectos de gran importancia es el “Proyecto de Desarrollo del Plátano en Nicaragua” que tiene por objetivo promover el uso de biotecnología con los cultivares de vitroplantas de plátano.

3.2. Centro Nacional de Cultivo de Tejidos

Uno de los principales problemas que enfrentan los productores del sector platanero es la selección de material de mala calidad y el mal manejo de enfermedades fitosanitarias que se desarrollan en sus parcelas, en respuesta a esta problemática Misión Técnica de la República de Taiwán en conjuntos con el Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria ejecuta el “Proyecto de Desarrollo del Cultivo de plátano en Nicaragua” para compartir sus experiencias con el uso de biotecnología de vitroplantas y que esta se adopte y se desarrolle por productores de plátanos en Nicaragua (El 19 Digital, 2018).

El CNCT tiene como objetivo garantizar vitroplantas de plátano con excelentes características genéticas para una mejor producción de plátano en el campo y de esta manera generar más ingresos a los productores (El 19 Digital, 2018). El centro actualmente está llevando a cabo la producción masiva de cinco variedades de *musáceas*, de mayor demanda a nivel nacional como son: Cuerno Enano, Cuerno Gigante, Cemsa $\frac{3}{4}$, Hawaiano y Gran Enano (banano).

El CNCT inicia la producción *in vitro* con una buena selección en campo de plantas madres élites para la obtención de material que será utilizado para el establecimiento *in vitro* que es la etapa inicial, la obtención del material élite (hijos de madre élites) se logra mediante el uso de la técnica de reproducción acelerada de semilla (TRAS). En la técnica TRAS los cormos de plátanos se siembran enteros en canteros o pequeños almácigos previamente acondicionados para que facilite la brotación de las yemas axilares. Se elimina la yema apical a un centímetro por debajo de la corona que une al cormo con el pseudotallo; esto garantiza la eliminación de la dominancia apical e induce la brotación de las yemas axilares (Aguilar *et al.*, 2004).

El CNCT implementa la técnica de micropropagación que es el conjunto de técnicas y métodos de cultivos de tejidos utilizados para multiplicar plantas de forma rápida, eficiente y en grandes cantidades. Esta facilita transferir al campo material más sano, libre de plagas y enfermedades, disponer de material de siembra en cualquier época del año, multiplicar aceleradamente genotipos deseables, transportar fácilmente los propágulos y mayores producciones (Chavarría y López, 2010).

3.2.1. Misión CNCT

Investigar, generar y adaptar la implementación de biotecnologías innovadas de cultivo de tejidos de plátano en Nicaragua en correspondencia con las necesidades del desarrollo del sector platanero nacional, fortaleciendo el trabajo de pequeño y medianos productores, así como contribuir al incremento de la productividad y rendimiento al manejo sostenible de los recursos naturales, a la soberanía, seguridad alimentaria y reducción de la pobreza, mediante la investigación científica e innovación tecnológica, a través de alianzas públicos-privadas con el protagonismo de las familias de productores y productoras.

3.2.2. Visión del CNCT

Aumentar la capacidad de producción masiva de vitroplantas para garantizar semilla de buena calidad, sana y libre de patógenos y que puedan mitigar los efectos del cambio climático para que los productores de plátano logren aumentar rendimientos en sus producciones en las diferentes regiones del país.

3.2.3. Objetivos generales del CNCT

- 1) Establecer el sistema de producción, suministro y la comercialización de las plántulas para el cultivo de tejidos.
- 2) Fortalecer la capacidad tecnológica para cultivar plantas sanas de plátano y con buenos rendimientos productivos y el sistema de promoción.
- 3) Mejorar la capacidad de asesoría a los productores organizados en las cooperativas y fortalecer sus funciones.
- 4) Producir la meta de 1 millón 600 mil vitroplantas para el año 2021.

3.2.4. Estructura organizativa del Centro Nacional de Cultivo de Tejidos

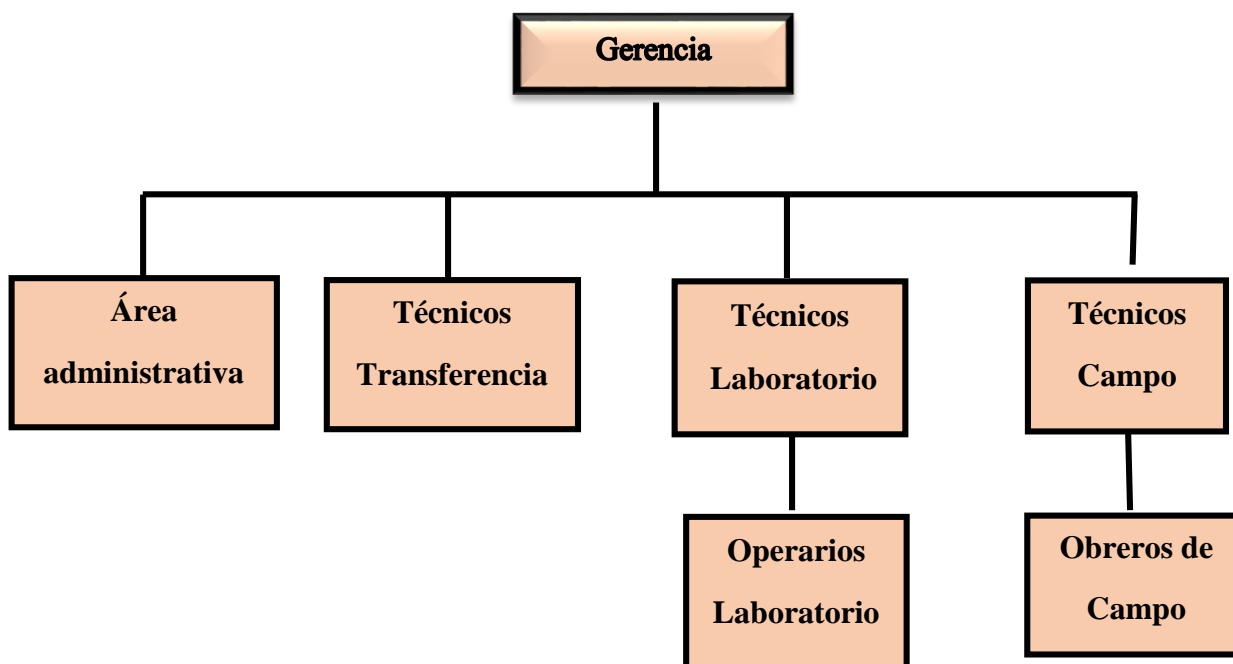


Figura 1. Estructura organizativa del Centro Nacional de Cultivo de Tejidos, CNCT-INTA. 2020

El Centro Nacional de Cultivos de Tejidos posee la siguiente organización:

Gerencia: Representantes de Misión Técnica de Taiwán y del INTA.

Área administrativa: Representante del INTA encargado de la contabilidad y recursos financieros del CNCT.

Técnicos de transferencias: Ingenieros del campo agropecuario o carreras afines capacitados para divulgar el uso de vitroplantas para una mejor producción a productores de plátano de las diferentes regiones del país.

Técnicos de laboratorio: Ingenieros del campo agropecuario que se encargan del proceso de la producción de vitroplantas de plátano en cámaras de flujo laminar capacitando a las operarias para un buen uso de los protocolos del CNCT.

Operarios de laboratorio: Personal capacitado y encargado de la producción masiva de vitroplantas. En esta área se desarrolló el trabajo de pasantía estableciendo y multiplicando plantas *in vitro* de plátano.

Técnicos de campo: Ingenieros agropecuarios encargados de garantizar un buen manejo de aclimatización y endurecimiento de vitroplantas de plátano en invernaderos del Centro Nacional de Cultivos de Tejidos CNCT-INTA.

Obreros de campo: se encargan de la siembra de vitroplantas en bandejas y también en bolsas, así como la preparación de sustratos y la aplicación de fertilizantes según la etapa de las plantas en aclimatización y su endurecimiento en viveros.

3.2.5. Recursos Financieros, infraestructura y equipamiento.

Recursos financieros: provienen del financiamiento de la Misión Técnica de la República de Taiwán e ingresos por las ventas de las vitroplantas de plátano.

Infraestructuras: Comprende las áreas de gerencia, administración, oficinas de técnicos agropecuarios y área de laboratorio. En campo se cuenta con cuatro invernaderos, un área de lavado de vitroplantas y una planta de suministro eléctrico que se utiliza en caso de emergencias.

Equipamiento: Equipos de oficina (escritorios, computadoras, sillas, impresoras), equipos de laboratorios para la propagación de tejidos (cámaras de flujo laminar, autoclaves industriales, hornos industriales y dispensador de banda para llenado de medio en los frascos de vidrios) y carretas para traslado de material multiplicado en los cuartos de crecimientos.

IV. FUNCIONES EN EL ÁREA DE TRABAJO

4.1. Funciones desarrolladas en el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos mayo - noviembre 2020.

1. Mondado de cormos de plátano de diferentes variedades para hacer uso de la técnica de reproducción acelerada de semilla (TRAS).
2. Establecimiento de explantes de plátano para dar inicio a etapa *in vitro*.
3. Propagación de vitroplantas de plátano desde primera multiplicación (1M) hasta la octava multiplicación (8M).
4. Enraizamiento de vitroplantas de plátano.
5. Lavado de vitroplantas de plátano.
6. Siembra de vitroplantas de plátano en bandejas con sustrato para aclimatización y endurecimiento.

V. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DESARROLLADO

Descripción de las actividades desarrolladas durante el mes de mayo – noviembre 2020 en el Centro Nacional de Cultivos de Tejidos CNCT-INTA.

5.1. Mondado de cormos de plátanos para TRAS

Para la producción masiva de plantas *in vitro* de plátano se necesita material genético de calidad para mantener las mismas características de la planta madre o élite. En el CNCT el mondado de cormos se inicia con un lavado para quitar restos de tierra y rastrojos, luego se retiran las capas de pseudotallo hasta visualizar el anillado del cormo con ayuda de cuchillos afilados y desinfectados con cloro al 1.5%. Se realizó una incisión en forma de x en el centro del cormo para estimular la producción de brotes y los cormos fueron colocados en canteros dentro de cámaras térmicas (figura 2).



Figura 2. a) separación de capas de pseudotallo de plátano; b) incisión en x para eliminar la dominancia apical e inducir la brotación de yemas axilares de plátano.

5.2. Establecimiento de explantes de plátano para dar inicio a la etapa *in vitro*

5.2.1. Cosecha de tejido vegetal de plátano en canteros para dar inicio a la etapa *in vitro*

Después de un mes de la siembra de los cormos en canteros, se realizó la cosecha de las plantas de plátano que se establecieron *in vitro* (figura 3).



Figura 3. Cosecha de plantas élites de plátano en canteros del Centro Nacional de Cultivo de Tejidos

5.2.2. Primera reducción de plantas de plátano para establecimiento *in vitro*

Al finalizar la cosecha de las plantas de plátano de los canteros, se realizó la primera reducción que consiste en cortar parte del tallo y cormo para luego desinfectarlo con cloro al 1.5% por 10 minutos (Figura 4).



Figura 4. Primera reducción de explantes de plátano y desinfección con cloro al 1.5%.

5.2.3. Segunda reducción de explantes de plátano para establecimiento *in vitro*

Terminado el tiempo de desinfección de la primera reducción se reduce el tejido en una mesa desinfectada con alcohol al 75%, tablas de picar desinfectadas, cuchillos estériles, guantes de

látex, panas plásticas desinfectadas con alcohol al 75% y recipiente con agua más cloro al 1% para desinfectar los cuchillos al realizar cada corte (figura 5).



Figura 5. Materiales utilizados en la segunda reducción de explantes de plátano

Se realizó cortes a los cuatro lados del tejido de forma vertical y horizontal, luego se corta base del cormo y el pseudotallo, dejando un tamaño de 5 cm de grosor de cormo y 6 cm de pseudotallo. Luego se desinfectaron con alcohol al 75% por 30 segundos para realizar una tercera reducción en áreas asépticas dentro del laboratorio (figura 6).



Figura 6. Segunda reducción de explantes de plátano para establecimiento *in vitro*

5.2.4. Tercera reducción de explantes de plátano para establecimiento *in vitro* en áreas asépticas del laboratorio del CNCT

En esta área se utilizan materiales esterilizados por normas asépticas de los protocolos *in vitro* del laboratorio, se utiliza alcohol al 75%, agua esterilizada, beakers, toallas, cuchillos y tablas para picar estériles (figura 7).



Figura 7. Materiales utilizados para tercera reducción de explantes de plátano en áreas asépticas del laboratorio de CNCT.

La tercera reducción se realizó haciendo cortes a los cuatro lados del explante en forma vertical y horizontal hasta dejarlos de un tamaño aproximado de 3 cm de cormo y 3 cm de pseudotallo, se desinfectaron en alcohol al 75% por 1 minuto y se realizaron tres enjuagues con agua estéril para eliminar restos del alcohol (figura 8).



Figura 8. a) Tercera reducción de explantes de plátano; b) Desinfección de explantes de plátano con alcohol al 75% por 1 minuto.

Los explantes con cloro al 2% más tween 20 fueron colocados en el limpiador ultrasónico por 15 minutos para una mejor desinfección de los tejidos, luego se enjuagaron con agua estéril para eliminar residuos de cloro (figura 9).

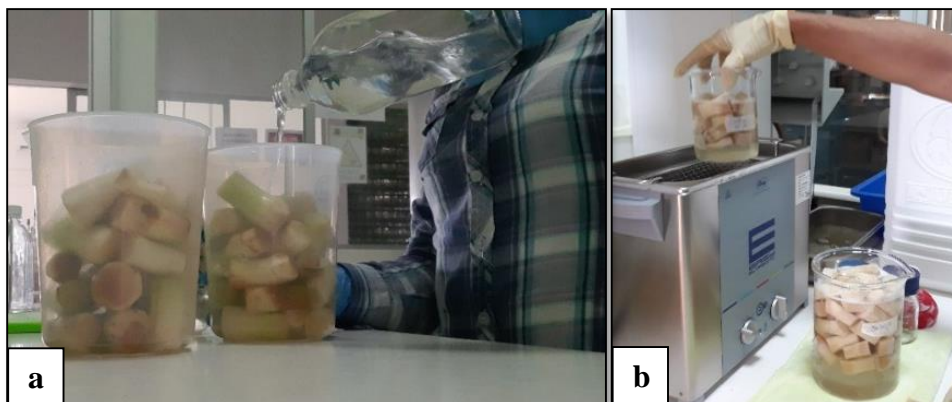


Figura 9. a) Lavado de explantes de plátano con agua estéril; b) desinfección de explantes de plátano con cloro al 2% más tween 20 en el limpiador ultrasónico

5.2.5. Cuarta reducción de explantes de plátano para establecimiento *in vitro* en áreas aséptica del laboratorio del CNCT

La cuarta reducción se eliminó una capa de pseudotallo y se cortó la base y los cuatro lados del cormo con bisturí esterilizado. Los tejidos son llevados al área de transferencia para su desinfección y establecimiento en medio nutritivo.

5.2.6. Desinfección de explantes de plátano en el área de transferencia de tejidos en el laboratorio del CNCT

Los explantes de plátano se desinfectan con cloro al 1% más tween 20 durante 10 minutos dentro de la cámara de flujo laminar, pasado este tiempo se les realiza tres enjuagues con agua estéril (Figura 10).



Figura 10. a) Cámara de flujo laminar en área de transferencia de tejidos; b) desinfección de explantes de plátano con cloro al 1% más tween 20 en cámara de flujo laminar.

5.2.7. Establecimiento 0 - 1 de ápices meristemáticos de plátano en cámara de flujo laminar

Terminada la desinfección se prepara la cámara de flujo laminar con pinzas, bisturí, papel y frascos con medio nutritivo estéril. El establecimiento se realiza haciendo cortes en el cormo y tallo del tejido vegetal para reducir su tamaño a 1 cm de cormo y 1cm de tallo y obtener ápices meristemáticos de plátano que se siembran en frascos que contienen medio nutritivo Murashige and Skoog (MS) sin reguladores de crecimiento para su desarrollo. Los frascos al final se sellan con parafina para evitar la contaminación del tejido vegetal (Figura 11).



Figura 11. Establecimiento *in vitro* de explante de plátano en área de transferencia de tejidos del laboratorio del CNCT.

5.3. Propagación de tejido *in vitro* de plátano etapa 0 - 2

Después de un mes del establecimiento 0-1 se limpian los frascos que contienen el tejido *in vitro* con alcohol antes de ser utilizados. Se extrae el tejido de los frascos y se coloca sobre papel estéril se realiza un primer corte dejando 1cm de tallo y cormo aproximadamente se remueve una capa de pseudotallo para finalizar cortando en 4 partes el tejido y se siembra en el medio de cultivo MS enriquecido con 2.5 mg l^{-1} de la fitohormona vegetal 6 bencil amino purina (6-BAP) y de esta manera desarrollar brotes para las próximas multiplicaciones de vitroplantas (figura 12).

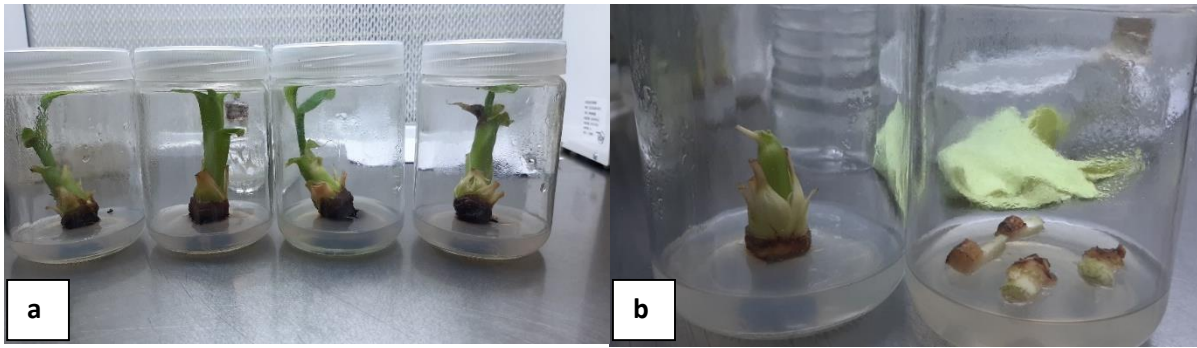


Figura 12. a) Desarrollo de plantas *in vitro* de plátano después de un mes del establecimiento; b) establecimiento *in vitro* de plátano etapa 0-2.

5.4. Multiplicaciones de vitroplantas de plátano en el CNCT

La primera multiplicación de vitroplantas se realizó un mes después del establecimiento 0-2, en esa etapa de primera multiplicación se logró observar el desarrollo de brotes que fueron separados y sembrados en el medio MS + 2.5 mg l⁻¹ 6-BAP para aumentar la producción de nuevos brotes axilares. En la primera multiplicación se siembran seis explantes por frascos, en la segunda y tercera multiplicación de vitroplantas de plátano se siembran siete brotes y desde la cuarta, a la octava multiplicación se siembran nueve vitroplantas por frascos (figura 13).



Figura 13. a) Primera multiplicación de vitroplantas de plátano. b) siembra de vitroplantas de plátano en medio nutritivo para el desarrollo de nuevos brotes.

5.5. Enraizamiento de vitroplantas de plátano en el CNCT

En esta etapa las vitroplantas de plátano que tienen mayor vigor y con buena formación de tallo y hojas se les aplica medio de enraizamiento líquido a los frascos. El medio compuesto por MS

más carbón activado y 2.5 mg l^{-1} de 6 BAP para promover una respuesta de crecimiento y desarrollo del sistema radicular en las vitroplantas. Esta actividad se realiza en cámara de flujo laminar (Figura 14).

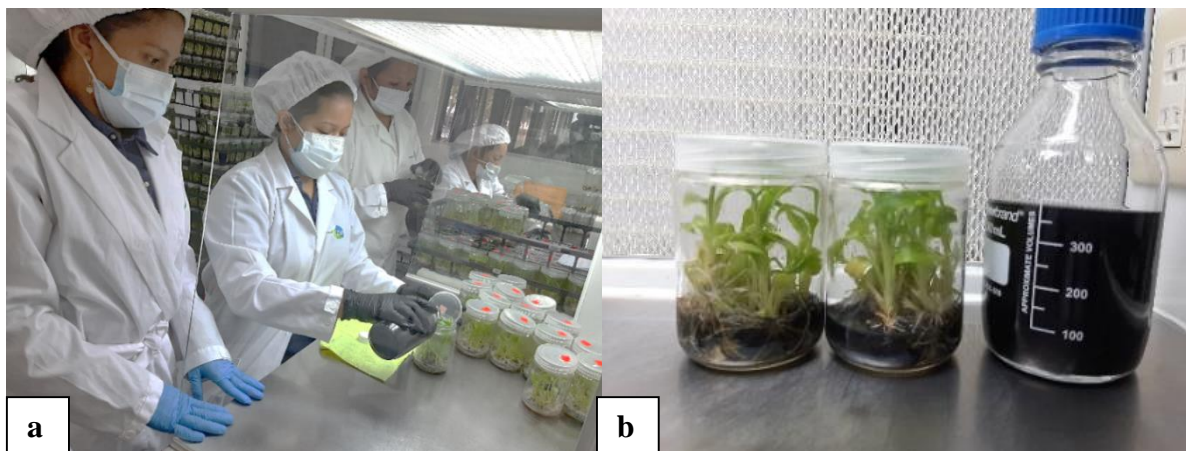


Figura 14. a) Aplicación de medio líquido de enraizamiento a frascos con vitroplantas de plátano. b) frascos de vitroplantas de plátano con medio de enraizamiento.

5.6. Lavado, selección y siembra de vitroplantas de plátano en bandejas en el CNCT

En un recipiente de acero inoxidable con capacidad de 80 litros de agua, se lavan las vitroplantas de plátano para eliminar los restos del medio de cultivo, luego se seleccionan por tamaño: grandes, medianas y pequeñas. Las plantas seleccionadas se siembran en bandejas con sustrato kekkila con cascarilla de arroz y son colocadas en los invernaderos que cuentan con las condiciones para su endurecimiento (Figura 15 y Anexo 1).



Figura 15. a) Lavado de vitroplantas de plátano en agua de ósmosis. b) eliminación de restos de medio de cultivo de las vitroplantas de plátano; c) Selección de vitroplantas de plátano por tamaño grande, mediana y pequeña.

VI. RESULTADOS OBTENIDOS

1. Se realizó el mondado de 580 cormos provenientes de plantas élites de plátano de diferentes variedades para garantizar material de producción *in vitro*.
2. Se establecieron 1,548 ápices meristemáticos de plátano de la variedad Cuerno Enano, 1, 375 ápices de la variedad Cemsa ³/₄, 63 ápices de Cuerno Gigante y 56 de la variedad Gran Enano en un periodo de seis meses.
3. Se multiplicaron un total de 55,912 vitroplantas de plátano de las variedades Cemsa ³/₄, Cuerno Gigante, y Gran Enano.
4. Se enraizaron un total de 78,921 vitroplantas de plátano de las variedades Cemsa ³/₄, Cuerno Gigante, y Gran Enano.

VII. CONCLUSIONES

- Adquirí conocimientos sobre las características que deben poseer las plantas élites de plátano para ser seleccionadas para establecimiento de ápices meristemáticos *in vitro*.
- Se realizó el establecimiento y multiplicación de plantas *in vitro* de las variedades Cuerno Enano, Cuerno Gigante, Cemsa 3/4, Hawaiano y Gran enano provenientes de parcelas elites de plátano, siguiendo el protocolo establecido por el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos.
- Se realizaron diferentes actividades como parte del proceso de producción de plantas *in vitro* de plátano: establecimiento, multiplicación y enraizamiento en etapa de laboratorio; preparación y siembra en bandejas de las vitroplantas de plátano en invernadero.

VIII. LECCIONES APRENDIDAS

- Adquirí conocimiento sobre las características que deben poseer las plantas élites de plátano para ser seleccionadas para el establecimiento *in vitro*
- Se obtuvo experiencia, destrezas y habilidades para cumplir con las metas de producción de vitroplantas de plátano establecidas en el laboratorio.
- Se valoró el trabajo en equipo como fundamento para el éxito en el proceso de producción de plantas *in vitro* de plátano.

IX. RECOMENDACIONES

- La Universidad Nacional Agraria debe establecer convenios con empresas e instituciones para brindar oportunidades de empleos a los egresados que están desarrollando pasantías para optar al título universitario y de esta manera facilitar la inserción en el mundo laboral.
- El personal contratado por el Centro Nacional de Cultivo de Tejidos debe ser capacitado por especialistas en cultivo de tejidos vegetales en técnicas de laboratorio para mejorar la eficiencia en el proceso de producción de vitroplantas de plátano.
- El Centro Nacional de Cultivo de Tejidos brinde la oportunidad a los trabajadores de ser promovidos a otras áreas laborales del centro previa capacitación.

X. LITERATURA CITADA

- Aguilar, M. Reyes, Acuña, M. 2004. *Métodos alternativos de propagación de semilla agámica de plátano (Musa sp.) Guía técnica No 1*. Universidad Nacional Agraria.
- Chavarría, D.C. y López, G.M. (2010). *Micropropagación de ápices caulinares de plátano (Musa sp. AAB) cultivar Cuerno Gigante 2010*. [Título profesional, Universidad Nacional Agraria] Repositorio Académico de la Universidad Nacional Agraria. <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf02c512m.pdf>
- El 19 Digital. (25 de Octubre, 2018). Inauguración del centro de cultivo de tejidos vegetales de plátano. *El 19 Digital*. <https://www.el19digital.com/articulos/ver/titulo:83101-inauguran-centro-nacional-de-cultivo-de-tejidos-vegetales-de-platano>
- El 19 digital. (31 de Octubre 2019). Nicaragua potenciara producción de plátano, banano, y guineo. *El 19 Digital*. <https://www.el19digital.com/articulos/ver/titulo:96088-nicaragua-potenciara-produccion-del-platano-banano-y-guineo>
- El 19 Digital. (21 de Febrero 2020). Avances del programa de desarrollo de plátano con vitroplantas en Nicaragua. *El 19 Digital*. <https://www.el19digital.com/articulos/ver/titulo:100311-presentan-exitosos-avances-del-programa-de-desarrollo-de-platano-con-vitro-plantas-en-nicaragua>
- Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). (30 de Noviembre del 2018). Taiwán e INTA promueven tecnología para incrementar productividad de plátano. *INTA*. <https://inta.gob.ni/2018/11/30/taiwan-e-inta-promueven-tecnologia-para-incrementar-productividad-de-platanos/>
- Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). (2019). Guía técnica con plantas in vitro de plátano. *INTA*. <https://inta.gob.ni/project/guia-tecnica-con-plantas-in-vitro-platano/>
- LA GACETA, DIARIO OFICIAL (26 de Marzo 1993). DECRETO No 22-93. Creación del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria, aprobado el 26 de marzo de 1993 y publicado en la gaceta, diario oficial No.61 del 26 de marzo de 1993. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/nic145522.pdf>

XI. ANEXOS

Anexo 1. Siembra de vitroplantas en bandejas con sustrato nutritivo para su desarrollo y endurecimiento en viveros.

