



BOLIVIA

MINISTERIO DE DESARROLLO
RURAL Y TIERRAS

MANUAL DE PROPAGACIÓN IN VITRO DE BANANO Y PLÁTANO



AUTORIDADES NACIONALES

M. Sc. Luis Alberto Arce Catacora

Presidente Constitucional del Estado Plurinacional de Bolivia

Lic. David Choquehuanca Céspedes

Vicepresidente del Estado Plurinacional de Bolivia

AUTORIDADES INSTITUCIONALES

Windson July Martínez Ph.D.

Director General Ejecutivo INIAF

Rogelio Maydana Apaza Ph. D.

Dirección Nacional de Innovación

Ing. Jose Gabriel Condori Chipana

Responsable Proyecto Banano y Plátano

CRÉDITOS

Autores:

Ing. Jhovany Castillo Castaya
Ing. Dania Marisol Velasco Condori

Edición:

Windson July Martinez Ph.D.
Rogelio Maydana Apaza Ph.D.
M. Sc. Emma Yana Ali
Ing. Valerio Vargas Pantoja

Impresión y Diagramación:

C&C Impresiones
Av. 20 de Octubre N° 1677
Telf.: 2495695 • Cel.: 76759999 • Email: cycimpresionesgraf@gmail.com
La Paz Bolivia

1ra edición

ISBN: 978-9917-9654-1-1

Deposito Legal: 4-1-630-2025 P.O.

PRESENTACIÓN

El Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF), creado mediante el Decreto Supremo N.º 29611 del 25 de junio de 2008, tiene entre sus funciones dirigir, desarrollar y ejecutar procesos de investigación e innovación, brindar asistencia técnica, apoyar la producción de semillas, y promover la recuperación y difusión de conocimientos, saberes y tecnologías, además del manejo y gestión de recursos genéticos. Asimismo, le corresponde la administración del sistema nacional de recursos genéticos en los ámbitos agrícola, pecuario, acuícola y forestal, lo que incluye la gestión de bancos de germoplasma y centros de investigación.

El programa “Mejora de la producción y comercialización de Banano y Plátano en el Trópico de Cochabamba y Los Yungas de La Paz” tiene como objetivo principal incrementar la productividad y mejorar la calidad del banano y plátano en las regiones beneficiarias, mediante el fortalecimiento de capacidades técnicas, el acceso a tecnologías apropiadas, la implementación de buenas prácticas agrícolas y el impulso a la comercialización, contribuyendo así al desarrollo sostenible de los productores y a la seguridad alimentaria del país.

Este material está dirigido a productores de banano y plátano, así como al público en general, con el propósito de brindar orientación sobre la aplicación de prácticas adecuadas para mejorar la producción de plantines de calidad.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. MULTIPLICACIÓN DE CULTIVO DE TEJIDOS (IN VITRO) EN LABORATORIO Y ACLIMATACIÓN EN VIVEROS	4
3. COLECTA DE MATERIAL GENÉTICO.....	5
3.1 Selección y colecta de cormos	5
3.2. Recepción de cormos	6
3.3. Lavado	6
3.4. Reducción.....	6
4. ESTABLECIMIENTO.....	7
4.1. Preparación de medio.....	7
4.2. Desinfección	7
4.3. Siembra y establecimiento.....	7
5. MULTIPLICACIÓN	8
5.1. Separación de brotes.....	8
5.2. Siembra	8

5.3. Multiplicación <i>in vitro</i> de brotes.....	9
6. ENRAIZAMIENTO	9
7. INVERNADERO DE ACLIMATIZACIÓN	13
7.1. Estructura del invernadero.....	13
7.2. Condiciones ambientales controladas	13
7.3. Consideraciones adicionales	14
7.4. Recepción de (VTPs) de laboratorio de biotecnología	15
7.5. Preparación de sustrato.....	16
8. ESTERILIZADO DE SUSTRATO PARA FASE DE ACLIMATACIÓN Y ENDURECIMIENTO EN VIVERO	17
8.1. Técnica para medir el pH del sustrato en campo con un equipo multiparametro.....	18
8.2. Corrección del pH en sustrato para plantines de banano y plátano	19
9. LLENADO DE SUSTRATO ESTÉRIL EN BANDEJAS CON ALVEOLOS	21
10. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE AMBIENTE DE ACLIMATACIÓN.....	22
10.1.Desinfección con hipoclorito de sodio	22
10.2.Desinfección con creolina.....	22
11. REPIQUE DE VITROPLANTAS DE BANANO Y PLÁTANO A INVERNADERO.....	23

12. MANEJO DE VITROPLANTAS EN INVERNADERO	24
12.1.Aplicación de antiestresante.....	24
12.2.Fertilización.....	24
12.3.Aplicación de insumos para mitigación de plagas y enfermedades	24
12.4.Estrategia de manejo.....	25
13. TRASPLANTE DE VITROPLANTAS DE BANANO A BANDEJAS CON ALVEOLOS	26
13.1.Condiciones del invernadero de aclimatación	27
13.2.Duración del proceso de aclimatación.....	27
14. VIVERO DE ENDURECIMIENTO DE PLANTINES	31
14.1.Instalación de vivero	31
14.2.Procedimiento para la implementación de un vivero	33
14.3.Instalación de postes	33
14.4.Instalación de estructura superior.....	33
14.5.Instalación de malla semisombra	34
14.6.Embolsado de sustrato y éntilado.....	35
15. TRASPLANTE DE PLANTINES ACLIMATADOS A VIVERO	36
16. MANEJO DE PLANTINES EN VIVERO	37

17. RIEGO	38
18. MONITOREO.....	39
19. FUMIGACIÓN	40
20. FERTILIZACIÓN	41
21. SELECCIÓN DE PLANTINES CON VARIACIÓN SOMACLONAL.....	41
21.1.Control y monitoreo de la variación somaclonal	41
21.2.Características de entrega de plantines	43
22. BIBLIOGRAFIA	44

MULTIPLICACIÓN IN VITRO



1 INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el banano y el plátano son rubros muy importantes en términos económicos para la mayoría de los países productores, puesto que generan ingresos de divisas y constituyen fuentes de trabajos permanentes y transitorios para una parte de la población, contribuyendo con la seguridad y soberanía alimentaria de países en vía de desarrollo, ya que son alimentos básicos en la dieta diaria de millones de personas, tanto como alimento fresco, de cocción y alimentos ricos en energía.

Con el objetivo de mantener el vigor de los tejidos vegetales y permitir que crezcan se desarrollen y multipliquen, se emplea el cultivo *in vitro*, una técnica que permite el crecimiento y desarrollo de células, tejidos y órganos vegetales en un frasco de vidrio en un ambiente artificial y controlado. Esta técnica ha revolucionado la investigación y la producción vegetal en las últimas décadas, debido a sus numerosas ventajas y aplicaciones.

Algunas de las ventajas de la micropropagación son las siguientes:

- Permite la obtención de plantas con registro fitosanitario, al someter el tejido a este sistema de cultivo se eliminan totalmente las enfermedades de tipo bacteriano, fúngico y viral.
- Las plantas obtenidas por este sistema son réplicas exactas entre sí y fieles copias de la planta progenitora.
- El número de individuos obtenidos por este método es superior al obtenido por cualquier otro método de propagación.
- Además, permite acortar los tiempos de producción de plantas.

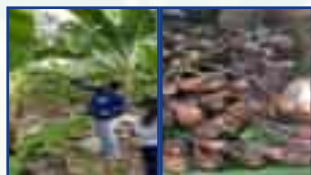
El presente manual tiene la finalidad de brindar nociones básicas sobre la propagación *in vitro* y ofrecer guía técnica para la aclimatación y endurecimiento de vitroplantas de banano, orientada a la obtención de plantines.

2 MULTIPLICACIÓN DE CULTIVO DE TEJIDOS (*IN VITRO*) EN LABORATORIO Y ACLIMATACIÓN EN VIVEROS

La propagación *in vitro* es una técnica que consiste en extraer una pequeña parte de la planta (explantes) y se cultiva en condiciones asépticas en un medio de cultivo, formado por macro y micronutrientes, carbohidratos, vitaminas, reguladores de crecimiento y a veces aminoácidos, todo esto bajo un ambiente estrictamente controlado, Romero Alves (2018).

La propagación *in vitro* de (*Musa* sp) se realiza por meristemos apicales extraídos de los cormos, debido a que estos meristemos tienen un crecimiento longitudinal y también por su potencialidad.

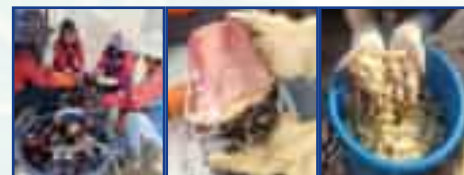
PRODUCCIÓN DE VITROPLANTAS EN LABORATORIO



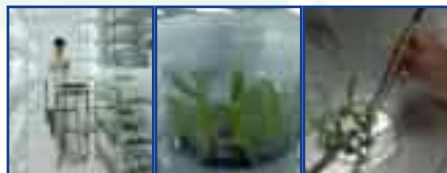
1. Selección y colecta de cormos.



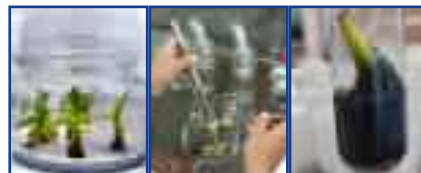
2. Recepción y registro de cormos



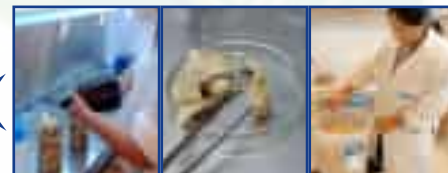
3. Lavado y reducción de cormos.



6. Fase de enraizamiento de vitroplantas.



5. Fase de multiplicación de vitroplantas de banano y plátano.



4. Fase de establecimiento de cormos a condiciones *in vitro*.

ACLIMATACIÓN Y ENDURECIMIENTO DE VITROPLANTAS



1. Vitroplantas de Banano y Plátano enraizadas.



2. Aclimatación en invernadero por 30 días



4. Endurecimiento en vivero por 60 días.



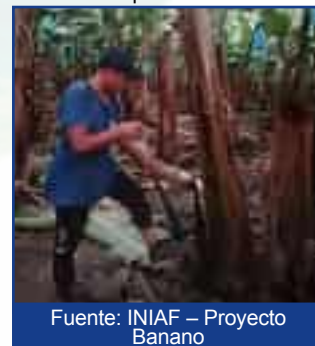
3. Preparación y desinfección de sustrato

3. COLECTA DE MATERIAL GENÉTICO

3.1 Selección y colecta de cormos

La colecta de cormos se realiza en áreas con plantas madre sanas, vigorosas y libres de enfermedades, seleccionando los hijos espada con altura de 30 a 50 cm. La extracción se efectúa cuidadosamente con pala, evitando daños al cormo y a los retoños laterales, y eliminando restos de suelo y raíces no deseadas. Los cormos se empaquetan en recipientes o sacos limpios y ventilados, etiquetados con la información del sitio y fecha de recolección, y se transportan a temperatura fresca (10–15 °C) para mantener su viabilidad y asegurar un adecuado establecimiento *in vitro* y micropropagación. (Jose Kutty el al., 2003)

Figura 1. Extracción de cormo de la planta madre



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 2. Selección de cormos



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 3. Lavado de cormos



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 4. Reducción de cormos



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

3.2 Recepción de cormos

Se debe abrir el recipiente de transporte para la aireación del cormo (en el transporte acumula energía térmica) y se realiza el conteo del material recibido y el descarte cormos lesionados e hijos de agua transportados por error.

*Evitar la exposición al sol (deshidrata el cormo) y a la lluvia (genera hongos y podredumbre del material vegetal).

Al momento de recibir los cormos en el laboratorio, es esencial inspeccionar sus condiciones y registrar detalladamente todos los datos. La documentación detallada es fundamental para contar con un sistema de trazabilidad de las plantas certificadas, permitiéndonos actuar con rapidez en caso de detectar una plaga (SENASAG, 2015).

3.3 Lavado

Los cormos se lavan con agua y detergente biodegradable para eliminar la tierra, barro, restos vegetales y otros residuos.

*Es importante que durante el lavado no se produzcan lesiones en el material.

3.4 Reducción

Se realiza la desinfección parcial de los cormos con agua y lavandina. Posteriormente, se efectúa la reducción paulatina, eliminando las vainas foliares hasta obtener un tamaño aproximado de 4 cm de alto x 2.5 cm de ancho, retirando el tejido no deseado. Finalmente, los cormos se dejan en remojo en una solución fungicida y bactericida (Fungobact), a una concentración de 2 g L⁻¹, durante 30 minutos.

4 ESTABLECIMIENTO

4.1 Preparación de medio

En un ambiente aséptico, se prepara una mezcla compuesta por agua destilada, nutrientes (macro y micronutrientes), hormonas vegetales, vitaminas y una fuente de carbono (sacarosa). El pH de la mezcla se ajusta a 5.75 y posteriormente se añade un agente gelificante. A continuación, el medio se distribuye en tubos de ensayo o frascos en volúmenes uniformes y se esteriliza en autoclave a 121 °C durante 20 minutos, a una presión de 15 libras por pulgada cuadrada (≈ 103 kPa). (Smith, 2013).

4.2 Desinfección

Dentro de la cámara de flujo laminar, los rizomas se lavan con agua destilada durante 2 minutos para eliminar los residuos de tratamiento con fungicida y bactericida previamente aplicado. A continuación, se desinfectan con alcohol al 70 % durante 2 minutos y se enjuagan con agua destilada estéril durante 3 minutos. Posteriormente, los explantes se sumergen en hipoclorito de sodio (NaClO) al 4 %, durante 10 minutos, y luego se enjuagan tres veces con agua destilada estéril, cada vez por 3 minutos, bajo agitación constante.

*Se recomienda realizar los procesos de selección en esta etapa para evitar pérdidas considerables.

4.3 Siembra y establecimiento

Se realiza una reducción longitudinal del explante. A continuación, se introduce cuidadosamente en un tubo de ensayo con medio de cultivo. El recipiente se tapa y se sella herméticamente con film para prevenir la contaminación. Los tubos o frascos se mantienen en condiciones de oscuridad durante 7 días, con el fin de

Figura 5. Preparación de medio de cultivo



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 6. Desinfección de rizomas



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 7. Establecimiento de explantes en tubo de ensayo



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

evitar la oxidación, posteriormente se trasladan a la cámara de crecimiento por un período de 30 días, etapa en la que se produce el desarrollo de los brotes apicales.

Figura 8. Separación de brotes en etapa de multiplicación



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

5 MULTIPLICACIÓN

5.1 Separación de brotes

Una vez que los explantes desarrollan múltiples brotes axilares, se eliminan los tejidos necrosados y las hojas completamente formadas, conservando brotes de entre 0.8 y 1 cm de longitud. En aquellos brotes más grandes y con buena base, se recomienda realizar un corte en el ápice para interrumpir la dominancia apical y estimular el desarrollo lateral. Esta operación se realiza bajo condiciones asépticas en la cámara de flujo laminar, utilizando instrumentos esterilizados, como bisturí y pinzas, para garantizar la integridad del material vegetal.

Figura 9. Siembra de nuevos brotes a frascos de vidrio



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

5.2 Siembra

Los brotes limpios se transfieren cuidadosamente a frascos de vidrio que contienen medio de cultivo previamente esterilizado. Se colocan las tapas y se sellan con film para prevenir contaminación, asegurando un contacto uniforme de cada brote con el medio. Cada frasco debe ser codificado con su identificación de laboratorio, lo que permite su seguimiento y manejo eficiente durante los subcultivos posteriores.

5.3 Multiplicación *in vitro* de brotes

Los frascos sembrados se trasladan en la cámara de crecimiento, donde se mantienen bajo condiciones controladas de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, temperatura de 25°C y humedad relativa entre 70% a 85%, donde los brotes generan nuevos brotes axilares. Durante los subcultivos subsecuentes, se realiza la eliminación de tejido envejecido o excesivamente desarrollado, manteniendo únicamente brotes sanos. Este proceso se repite hasta completar seis ciclos de multiplicación, optimizando la proliferación y vigor de las vitroplantas.

Figura 10. Cámara de crecimiento



6 ENRAIZAMIENTO

Para el enraizamiento, se selecciona los brotes más desarrollados, con una longitud de 1 a 2 cm; los brotes internos más pequeños, en cambio, se reservan para continuar la fase de multiplicación. Al cabo de 30 días se podrá observar que la plántula presenta un buen sistema radicular y follaje, quedando lista para su adaptación a condiciones del exterior.

Figura 11. Vitroplantas de 5 a 10 cm de longitud en etapa de enraizamiento en cámara de crecimiento



ACCLIMATIZACIÓN DE VITROPLANTAS



7 INVERNADERO DE ACLIMATACIÓN

Los invernaderos de aclimatación de vitroplantas de banano y plátano permiten adaptar gradualmente las plantas que han sido cultivadas en condiciones de laboratorio (*in vitro*) al ambiente externo, antes de ser trasplantadas al campo definitivo. Estas vitroplantas, al haber crecido en un entorno controlado, en frascos estériles con nutrientes y humedad constante, son muy sensibles a factores externos como la luz solar directa, cambios de temperatura, humedad variable y presencia de patógenos.

El invernadero proporciona un ambiente intermedio con condiciones parcialmente controladas de temperatura, humedad, ventilación y luz. Esto permite fortalecer el sistema radicular y foliar de las plantas, mejorar su resistencia y asegurar una mayor tasa de supervivencia y éxito en el cultivo a gran escala.

7.1 Estructura del invernadero

- **Material principal:** Acero galvanizado, anticorrosivo, resistente a condiciones climáticas adversas.
- **Tipo de estructura:** Arqueado (tipo túnel) o capilla, para facilitar la circulación del aire y el escurrimiento del agua.
- **Altura:** 3 a 4 metros en el punto más alto, para un buen volumen de aire.
- **Cubierta:** Agrofilm de alta resistencia UV (250 micras), malla sombra (65%), según el nivel de luz requerido.

7.2 Condiciones ambientales controladas

- **Temperatura óptima:** 25 - 30°C.
- **Humedad relativa:** Alta (70 - 95%) para evitar el estrés hídrico en las vitroplantas.
- **Ventilación:** Natural por cenitales y laterales con malla antiáfidos o forzada con extractores/ventiladores.

7.3 Consideraciones Adicionales

- Se recomienda incorporar un sistema de riego por nebulización para mantener humedad ambiental alta durante las primeras semanas de aclimatación.
- Implementar un protocolo de desinfección al ingreso, como pediluvios y lavado de manos.
- Realizar monitoreo frecuente de temperatura, humedad y presencia de plagas.
- Se recomienda un antesala o esclusa de acceso es un espacio intermedio cerrado, ubicado en la entrada principal del invernadero, diseñada para reducir el riesgo de ingreso de plagas, especialmente insectos vectores como los áfidos, y para permitir un control sanitario de las personas y materiales que ingresan al área de producción.

Figura 12. Construcción de invernadero de aclimatización



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

7.4 Recepción de (VTPs) de laboratorio de biotecnología

El material vegetal *in vitro* será suministrado por el laboratorio de biotecnología y deberá cumplir con los siguientes requisitos:

- Tamaño mínimo: 3 cm de alto
- Formación radicular: Buen desarrollo raíces
- Pseudotallos: Vigorosos y saludables
- Trazabilidad: Registro de trazabilidad garantizado
- Uniformidad: Tamaño y desarrollo uniformes

Figura 13. Recepción de vitroplantas para aclimatación



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

7.5 Preparación de sustrato

Insumos empleados en la preparación de sustratos

Tierra vegetal: Debe ser rica en materia orgánica con un contenido aproximado del 5% al 10%. Este componente mejora la fertilidad del sustrato y favorece su estructura, permitiendo una mejor retención de agua y nutrientes.

Limo: presenta una capacidad moderada para retener agua, lo que ayuda a mantener la humedad en el sustrato y reducir la frecuencia de riego.

Cascarilla de arroz requemada: La cascarilla de arroz requemada es un componente valioso para sustratos, ya que mejora significativamente sus propiedades físico-químicas y, como resultado, incrementa su capacidad de retención de agua, y mejorando la aireación.

Tabla 1. Proporción de sustrato para aclimatación de vitroplantas en invernadero

DETALLE	PORCENTAJE
Tierra vegetal	70 %
Limo	15 %
Cascarilla de arroz requemado	15 %
TOTAL	100%

Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Tabla 2. Proporción de sustrato para endurecimiento de plantines en vivero

DETALLE	PORCENTAJE
Tierra vegetal	50 %
Limo	40 %
Cascarilla de arroz requemado	10 %
TOTAL	100%

Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Contenido nutricional de sustrato recomendado

El sustrato recomendado para la producción de plantines de musáceas debe contener niveles equilibrados de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio, tanto para fase de aclimatación como para fase de endurecimiento.

Tabla 3. Parametro nutricional de sustrato para aclimatación de vitroplantas en invernadero

Parámetro	Unidad	Fase de Aclimatación	Fase de Endurecimiento
Ph		5.5 – 6.0	6.5 – 7.0
Nitrógeno total	%	0.9 – 1.0	0.7 – 0.8
Fósforo disponible	ppm	≥70	20 – 30
Potasio intercambiable	meq 100 g-1	0.7 – 1.6	0.4 – 0.7
Calcio intercambiable	meq 100 g-1	~20	15 – 20
Magnesio intercambiable	meq 100 g-1	2 – 4	1.5 – 2.0

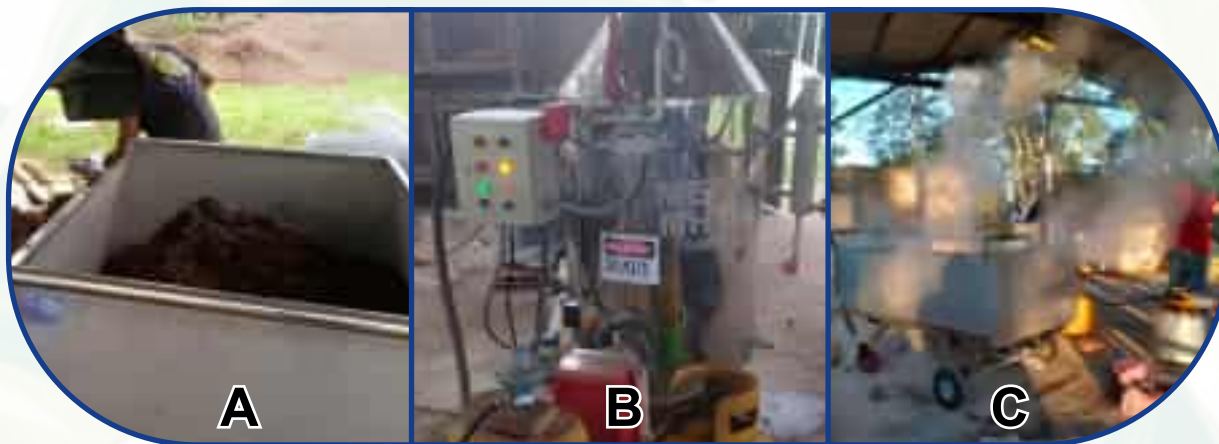
Guaita (2018) - **Fuente:** INIAF – Proyecto Banano

8 ESTERILIZADO DE SUSTRATO PARA FASE DE ACLIMATACIÓN Y ENDURECIMIENTO EN VIVERO

El sustrato debe ser esterilizado en un caldero a una presión de 2.5 bares y una temperatura de 120 °C, con el fin de eliminar cualquier presencia de plagas, agentes patógenos y semillas de malezas. El proceso de esterilización consiste en los siguientes pasos

- Se introduce el sustrato en el carrito.
- Se calienta el caldero hasta alcanzar una presión de 2.5 bares.
- Se libera la válvula de paso para permitir el ingreso de vapor de agua a una temperatura de 120 °C.
- El sustrato se esteriliza durante 25 a 30 minutos por carrito contados a partir del momento en que se efectúa la apertura de la válvula de paso

Figura 14. Esterilización de sustrato; **A:** incorporación al carro de esterilización; **B:** Calentado de caldero; **C:** Sustrato expuesto a altas temperaturas para eliminación de patógenos.



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

8.1 Técnica para medir el pH del sustrato en campo con un equipo multiparámetro

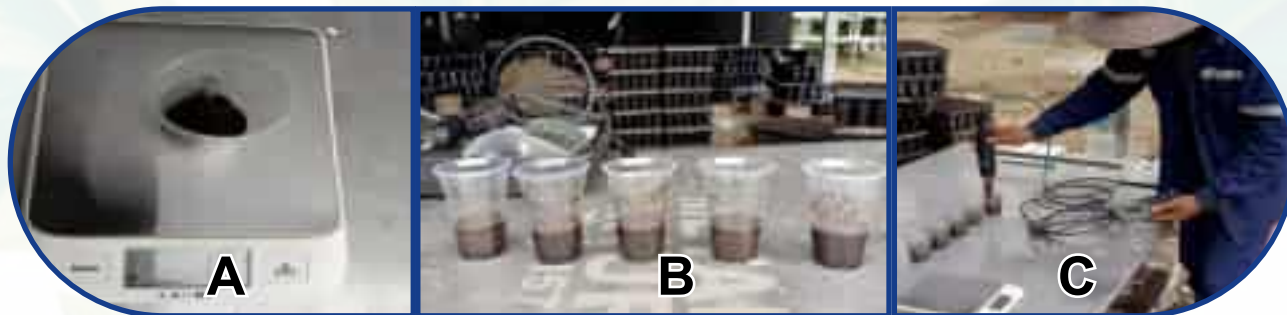
Preparación

- Antes de medir el pH, asegúrese de calibrar el equipo multiparámetro para tener resultados correctos al momento de la lectura.
- Seleccione una muestra representativa del sustrato que se desea medir.
- Mezcle la muestra de sustrato de 10 g en 50 cc de agua destilada y proceder a diluir para crear una suspensión y/o mezcla homogénea de la solución.

Medición del pH

- Introduzca la sonda del equipo multiparámetro en la solución de sustrato y agua.
- Espere a que la lectura se estabilice.
- Registre el valor de pH indicado en la pantalla del equipo.

Figura 15. Evaluación de pH en suelo; **A:** Pesado de muestra de sustrato; **B:** Preparación de solución de sustrato, **C:** lectura de pH de solución de sustrato.



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

8.2 Corrección del pH en sustrato para plantines de banano y plátano

Materiales necesarios:

- Cal hidratada
- Sustrato para aclimatación (Tierra vegetal 70% + limo 15% + cascarilla de arroz requemado 15%)
- Sustrato para endurecimiento (Limo 50 % + Tierra vegetal 40 % + Cascarilla de arroz requemado 10%)

Instrucciones

- Determinar la dosis de cal hidratada: Aplicar 5 kg de cal hidratada por metro cúbico (m³) de sustrato.
- Mezclar la cal hidratada con el sustrato: Incorporar la cal hidratada en el sustrato de manera uniforme para asegurar una distribución homogénea.
- Verificar el pH del sustrato: Después de la aplicación de la cal hidratada, verificar que el pH del sustrato se encuentre dentro del rango óptimo de 5.5 a 7.
- Promover un crecimiento saludable: La aplicación de cal hidratada tiene como objetivo promover un crecimiento saludable de los plantines de banano y plátano.

Un pH adecuado es crucial para el desarrollo saludable de los plantines. Un rango de pH entre 5.5 y 7 permite una absorción óptima de nutrientes y reduce el riesgo de enfermedades y estrés en las plantas.

Figura 16. Corrección de pH en sustrato; **A:** incorporación de cal; **B:** homogeneización de sustrato; **C:** medición de pH.



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

9 LLENADO DE SUSTRATO ESTÉRIL EN BANDEJAS CON ALVEOLOS

Materiales necesarios:

- Bandejas con alveolos de 0.54 x 0.28 m
- Sustrato preparado, esterilizado y encalado

Instrucciones:

- Llenar las bandejas con alveolos con el sustrato preparado, esterilizado y encalado.
- Compactar el sustrato de manera uniforme en cada alveolo, asegurándose de no dejar espacios vacíos.
- Verificar que el sustrato esté compactado de manera uniforme y que no haya espacios vacíos en su interior.

Figura 17. Llenado de sustrato en bandejas con alveolos para aclimatación.



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

10 LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE AMBIENTE DE ACLIMATACIÓN

10.1 Desinfección con hipoclorito de sodio

Procedimiento de la solución y aplicación

- Preparar la solución de hipoclorito de sodio al 8% según las instrucciones del fabricante.
- Aplicar la solución desinfectante en todo el lugar de trabajo, incluyendo superficies, equipos y áreas de circulación.
- Asegurarse de seguir las medidas de seguridad adecuadas al manipular el producto químico.

10.2 Desinfección con creolina

Preparación de la solución y aplicación

- Mezclar 30 ml de creolina por litro de agua.
- Aplicar la solución desinfectante en todo el invernadero, incluyendo superficies, equipos y áreas de circulación.
- Asegurarse de seguir las medidas de seguridad adecuadas al manipular el producto químico.

Figura 18. Desinfección de invernadero de aclimatación.



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

11. REPIQUE DE VITROPLANTAS DE BANANO Y PLÁTANO A INVERNADERO

- Extraer vitroplantas de magentas, seleccionar por tamaño, para tener desarrollo homogéneo dentro de invernadero.
- Lavar las raíces de las vitroplantas en un recipiente con agua tratada y posteriormente eliminar el agar (medio de cultivo).
- En un recipiente preparar solución desinfectante a base de hipoclorito de sodio a una concentración de 5 cc por cada 20 lt de agua.
- Posteriormente hacer una inmersión de las vitroplantas por un tiempo de 1 minuto
- Los clones de banano provenientes del laboratorio se proceden a trasplantar a bandejas de 50 alveolos.

Figura 19. Extracción de vitroplantas para repique.



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

12 MANEJO DE VITROPLANTAS EN INVERNADERO

12.1 Aplicación de antiestresante

Aplicar antioxidante y/o antiestresante a base de (nitrógeno y potasio) un día después del trasplante. A si mismo aplicar al momento del trasplante a vivero de endurecimiento.

Cuando las plantas sufren cualquier condición de estrés, sus células sintetizan un gas denominado ETILENO. Esta hormona se une a receptores ubicados en la membrana plasmática y como resultado se bloquea la RESPIRACIÓN celular impidiendo el abastecimiento de energía y agua para el crecimiento y desarrollo normal de las plantas. En estas condiciones es aún más difícil soportar el estrés.

12.2 Fertilización

Durante el cultivo *in vitro*, las vitroplantas que se encuentran en frascos tipo magenta y en medios de cultivo carecen de hojas y raíces verdaderas. Estas estructuras iniciales no son completamente funcionales, ya que el ambiente controlado del cultivo proporciona los nutrientes necesarios de manera artificial.

En el proceso de aclimatación, que ocurre cuando las plantas se trasladan del ambiente *in vitro* a condiciones más naturales, las vitroplantas comienzan a desarrollar sus primeras hojas y raíces verdaderas. Este proceso puede tomar varias semanas, durante las cuales las plantas se adaptan gradualmente al nuevo entorno.

Una vez que han formado estas estructuras verdaderas y están establecidas, se puede iniciar la aplicación de fertilizantes foliares para apoyar su crecimiento y realizar fertilización foliar a partir de la segunda semana del trasplante a invernadero a base de macro y micronutrientes.

12.3 Aplicación de insumos para mitigación de plagas y enfermedades

La mitigación de plagas y enfermedades es crucial para asegurar el crecimiento saludable y la supervivencia de las vitroplantas en el invernadero.

12.4 Estrategia de manejo

Rotación de moléculas: Definir una rotación ideal de moléculas para evitar la resistencia de plagas y enfermedades.

Monitoreo constante: Realizar un monitoreo constante para detectar plagas y enfermedades de manera temprana.

Aplicación de productos: Aplicar productos químicos o biológicos según sea necesario, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Beneficios

- Ayuda a reducir la incidencia de plagas y enfermedades
- Ayuda a promover el crecimiento saludable de las plantas
- Aumentar la calidad y la cantidad de plantas producidas

Riego

El riego en vivero es una práctica fundamental para asegurar el buen desarrollo de los plantines de banano durante sus primeras etapas de crecimiento. Un manejo adecuado del agua favorece el enraizamiento, el desarrollo foliar y la adaptación de las vitroplantas al ambiente *ex vitro*.

Frecuencia de riego

Durante las primeras semanas de aclimatación, se recomienda realizar riegos frecuentes, generalmente 2 a 3 veces al día, dependiendo de las condiciones climáticas (temperatura, humedad y ventilación).

A medida que los plantines desarrollan raíces funcionales y adaptan su sistema estomático, la frecuencia puede reducirse a una vez al día o cada dos días.

Tipo de agua

- Se debe utilizar agua limpia y libre de sales o contaminantes. El agua potable o de pozo filtrada es ideal.
- El pH del agua debe mantenerse entre **5.5 y 6.5**, y con una conductividad eléctrica baja ($<1 \text{ dS m}^{-1}$).

13 TRASPLANTE DE VITROPLANTAS DE BANANO A BANDEJAS CON ALVEOLOS

El trasplante de vitroplantas de banano desde el laboratorio a un invernadero de aclimatación es una fase crucial para que las plantas desarrollen estructuras funcionales (hojas y raíces verdaderas) y adquieran tolerancia a condiciones ambientales externas.

- Selección de vitroplantas: Se eligen plantas sanas, con tamaño uniforme (3 - 4 cm de altura), que presenten al menos una hoja funcional y signos de formación de raíces.
- Lavado del medio de cultivo: Las vitroplantas se retiran cuidadosamente de los frascos (magentas) y se lavan con agua estéril o hervida para eliminar los restos del medio nutritivo (agar).

Figura 20. Trasplante de vitroplantas a bandejas de aclimatación



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 21. Control de humedad de sustrato en bandejas de aclimatación



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

13.1 Condiciones del invernadero de aclimatación

- **Humedad relativa alta:** 80–90% en las primeras semanas, para evitar deshidratación. Esto se logra mediante nebulización o cubiertas plásticas temporales. (Scarani *et al* 2009)
- **Temperatura:** Entre 25 y 30 °C.
- **Luz:** Luz difusa, evitando la exposición directa al sol. Se recomienda 65% de sombra (uso de malla sombra).

13.2 Duración del proceso de aclimatación

- La fase de aclimatación puede durar entre 4 - 5 semanas, dependiendo de las condiciones ambientales y del desarrollo de las plantas.

ENDURECIMIENTO DE PLANTINES



14 VIVERO DE ENDURECIMIENTO DE PLANTINES

El endurecimiento de plantines de banano y plátano en vivero es una etapa crucial en la producción, especialmente cuando los plantines provienen de cultivo *in vitro* o de otras técnicas de propagación vegetativa. El objetivo del endurecimiento es preparar a las plantas jóvenes para las condiciones del campo definitivo, mejorando su tolerancia al estrés ambiental, plagas y enfermedades. (Saranya *et al* 2024)

14.1 Instalación de vivero

La instalación de un vivero para la producción de plantines de banano y plátano es una etapa estratégica para garantizar plantas sanas, uniformes y con alta tasa de supervivencia en campo.

Figura 22. Nivelación de terreno para establecimiento de vivero de endurecimiento



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Consideraciones para implementación de viveros

- **Topografía:** Se recomienda implementar viveros en terrenos ligeramente planos con una pendiente de 2 – 4%.
- **Acceso:** La ubicación debe estar cercana a fuentes de agua limpia y contar con vías de transporte accesibles, lo cual facilita tanto el suministro oportuno de insumos como el despacho eficiente de los plantines provenientes del vivero.

- **Protección:** El vivero debe estar protegido con un cerco perimetral para prevenir robos y el ingreso de animales. Además, se recomienda establecerlo en zonas libres de plantaciones viejas de banano, ya que estas pueden ser focos de plagas y enfermedades que afecten el desarrollo de los plantines.

Figura 23. Traslado de plantines endurecidos, por vía de ingreso a vivero



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

- **Drenaje:** Es fundamental contar con un sistema de drenaje adecuado que permita la rápida evacuación del agua de lluvia, ya que los plantines de banano y plátano son altamente susceptibles al encharcamiento, lo cual puede afectar negativamente su desarrollo.

Figura 24. Vivero de endurecimiento con drenaje establecido



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 25. Nivelación y marcado de terreno para establecimiento de vivero de endurecimiento



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 26. Apertura de hoyo para instalación de postes



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 27. Instalación de alambres de estructura superior de vivero



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

14.2 Procedimiento para la implementación de un vivero

Selección y Preparación del Área

- Dimensiones del vivero 40 m x 40 m (1600 m²) para capacidad de 45.000 plantines.
- Limpiar y nivelar el terreno, eliminando malezas, escombros y obstáculos.
- Marcar el perímetro y la distribución interna con cuerda y estacas, considerando la ubicación de los postes y pasillos.

14.3 Instalación de postes

- **Material:** Postes de cuchi (dimensiones 4" x 4", longitud 3 metros).
- **Tratamiento base:** Aplicar (aceite quemado) en la parte inferior de los postes (al menos los primeros 80 cm) para proteger contra humedad e insectos y aumentar su vida útil.
- **Profundidad de plantación:** 70 cm enterrados, dejando 2.3 m sobre el nivel del suelo.
- **Distancia entre postes:** 5 m entre sí, tanto en sentido longitudinal como transversal.

Abrir los hoyos con una boca de lobo, colocar los postes en vertical y rellenar con tierra compactada o mezcla de tierra y grava para mayor firmeza.

14.4 Instalación de estructura superior

- En la parte superior de los postes, tensar alambre galvanizado N° 10 de poste a poste en forma cuadrícula.
- Asegurar firmemente los alambres con grapas para evitar desplazamientos por viento o peso.

14.5 Instalación de malla semisombra

- Colocar malla raschel de semisombra al 50%, sujetándola al alambre galvanizado con amarras plásticas, alambre suave.
- Asegurar que la malla esté bien tensa y solapada entre secciones para evitar que el viento la dañe.
- Dejar una ligera caída para facilitar el escurrimiento del agua de lluvia.

Debe estar ubicada bajo un tinglado con cubierta anticorrosiva, contar con piso cementado y con pendiente para facilitar la limpieza y drenaje. Debe estar dividida en zonas para:

- Almacenamiento de materiales,
- Mezclado de sustrato, y
- Embolsado,

Todas bien ventiladas, limpias, con mesas de trabajo, herramientas desinfectables y acceso a agua y puntos de desinfección para garantizar condiciones higiénicas y prevenir enfermedades como Fusarium.

Tamaño de bolsas

Para garantizar un adecuado desarrollo del sistema radicular y facilitar el manejo agronómico de los plántines durante la etapa de vivero, se debe utilizar bolsas de polietileno con dimensiones de 15 x 20 cm.

Es importante que las bolsas estén perforadas en la parte inferior y en los laterales para garantizar un drenaje eficiente del exceso de agua y prevenir problemas de pudrición radicular. Además, se recomienda que las bolsas sean fabricadas con polietileno negro, ya que este material ayuda a proteger las raíces de la exposición directa a la luz solar y reduce el crecimiento de malezas en el sustrato.

Figura 28. Instalación de malla semisombra de vivero



14.6 Embolsado de sustrato y enfilado

La actividad de embolsado de sustrato debe realizarse en un área con cubierta (techada o protegida) principalmente por razones de protocolo de sanidad e inocuidad.

El embolsado de sustrato en bolsas de polietileno y el enfilado son procesos fundamentales en la preparación de viveros para plántines de banano y plátano, ya que garantizan un adecuado desarrollo inicial de las plantas. El embolsado debe realizarse asegurando una compactación moderada del sustrato para mantener la aireación y la retención de humedad.

Las bolsas con sustrato deben colocarse en el vivero en hileras dobles, formando dos filas contiguas. Posteriormente, se debe dejar un pasillo de 50 cm entre cada conjunto de hileras para facilitar la transitabilidad del personal dentro del vivero para Trasplante. Riego, labores culturales, monitoreo y fumigaciones.

Figura 29. Embolsado de sustrato para trasplante de plántines para endurecimiento



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

15 TRASPLANTE DE PLANTINES ACLIMATADOS A VIVERO

- Regar ligeramente las bandejas de alveolos unos 30 minutos antes del trasplante para facilitar la extracción.
- Inicialmente, aplicar riego de manera uniforme sobre el sustrato contenido en las macetas, asegurando que alcance a capacidad de campo, con el fin de garantizar una adecuada humedad inicial y posteriormente dejar orear el sustrato hasta que adquiriera una consistencia favorable.
- Realizar orificios en el centro de la maceta con sustrato utilizando un hoyador prefabricado a partir de una estaca los orificios deben contar buena profundidad para que el plantín quede al mismo nivel que en la bandeja.
- En cada orificio aplicar fertilizante a base de fosforo y nitrógeno 3 g por cada orificio
- Extraer con cuidado cada plantín sujetando por el pseudotallo, tratando de no dañar el pan de tierra conjunto con las raíces.
- Evitar enterrar el pseudotallo o dejar raíces expuestas.

Figura 30. Trasplante de plantines a bolsas para endurecimiento

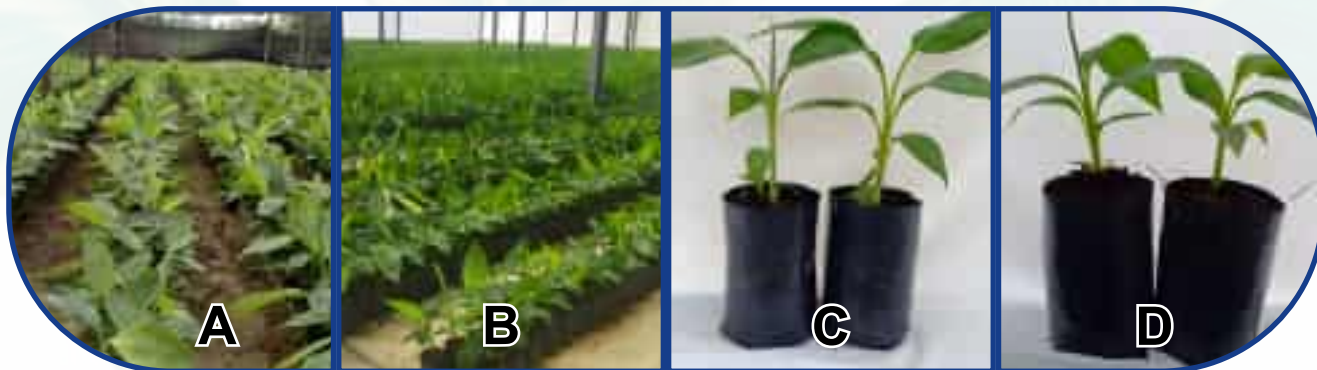


Fuente: INIAF – Proyecto Banano

16 MANEJO DE PLANTINES EN VIVERO

El manejo del banano en vivero es fundamental para asegurar plantines sanos, vigorosos y uniformes, lo que mejora el éxito del trasplante al campo. Un manejo adecuado abarca el control del riego, la nutrición, la sanidad y el sombreado, factores que influyen en el crecimiento inicial. Al ofrecer condiciones óptimas desde el vivero, se reduce la mortalidad, se acelera el establecimiento en campo y se optimiza el rendimiento del cultivo, haciendo la producción más eficiente y rentable.

Figura 31. Plantines de banano y plátano en proceso de endurecimiento; **A:** plantines de banano en vivero; **B:** plantines de plátano en vivero; **C:** ejemplares de banano; **D:** ejemplares de plátano.



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

17 RIEGO

El riego es fundamental en plantines de banano y plátano en vivero porque garantiza el suministro constante de agua necesario para el desarrollo de raíces, la absorción de nutrientes y el crecimiento saludable de la planta. Dado que el banano es una especie de clima tropical con alta demanda hídrica, una adecuada humedad en el sustrato evita el estrés hídrico, favorece la actividad fisiológica y asegura un desarrollo uniforme. Además, en condiciones controladas de vivero, el riego preciso permite prevenir problemas como la marchitez por sequía o la pudrición por exceso de agua, siendo clave para obtener plantines vigorosos y listos para el trasplante a campo definitivo.

Figura 32. Riego de plantines en vivero de endurecimiento



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Tabla 4. Comparación entre riego manual y riego por microaspersión en vivero de endurecimiento

ASPECTO	RIEGO MANUAL	RIEGO POR MICRO ASPERSIÓN
Control del agua	Alto control visual	Distribución más uniforme y constante
Frecuencia	3 - 4 veces por semana según las características climáticas de la zona	2 veces por día con menor duración
Costo inicial	Bajo	Medio (requiere instalación de red de tuberías)
Mano de obra	Alta (más personal y tiempo)	Baja (automático o semi-automático)
Eficiencia del agua	Menor (puede haber desperdicio o encharcamiento)	Alta (menos evaporación, mejor distribución)
Humedad ambiental	Menor efecto	Aumenta la humedad relativa, beneficioso para brotes
Riesgo de enfermedades	Mayor si se moja el follaje constantemente	Bajo si se regula correctamente
Tamaño del vivero	Ideal para viveros pequeños	Ideal para viveros medianos y grandes

Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Recomendación

- **Para viveros pequeños o con poco presupuesto:** el riego manual es viable, siempre y cuando se realice con cuidado y frecuencia adecuada.
- **Para viveros tecnificados o con mayor volumen de plantas:** la **micro aspersión** es más eficiente y recomendable, tanto en manejo del tiempo como en calidad de riego

18 MONITOREO

El monitoreo en un vivero de producción de plantines de banano y plátano es esencial para asegurar la calidad de las plantas y detectar a tiempo cualquier problema de ataque de plagas y enfermedades de esta forma tomar medidas preventivas.

Tabla 5. Parámetros para el monitoreo en vivero de aclimatación

Parámetro	Descripción	Frecuencia
Estado Fitosanitario	Presencia de plagas (áfidos, trips) y enfermedades (marchitez, manchas).	Semanal
Crecimiento Vegetativo	Altura, número de hojas, coloración.	Semanal
Humedad del Sustrato	Comprobación manual o con sensor de humedad.	Diario
Estado del Sustrato	Compactación, drenaje, presencia de hongos.	Semanal
Condiciones Ambientales	Temperatura y humedad relativa en vivero.	Diario
Daños Mecánicos	Plantines quebrados, arrancados o mal posicionados.	Diario
Uniformidad del Lote	Comparación de tamaño y vigor entre plantines.	Mensual

Fuente: INIAF – Proyecto Banano

19 FUMIGACIÓN

Para el establecimiento de un plan de mitigación de enfermedades es importante conocer el ingrediente activo de los productos químicos para tener un éxito en la rotación de moléculas para evitar resistencia de plagas y enfermedades, en ese sentido se tendrá bajo control las plagas y enfermedades para vivero con el propósito de obtener plantas sanas y vigorosas.

Tabla 6. Fungicidas preventivos

PRODUCTO	DOSIS
Mancozeb	400 g L-1
Clorothalonil	400 cc 20 L-1
Tridemorph	150 cc 20 L-1
Carbendazim	130 cc 20 L-1
Aceite (Asis top)	100 cc 20 L-1

Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Tabla 7. Insecticidas preventivos

PRODUCTO	DOSIS
Cypermethrin	20 cc 20 L-1
Thiamethoxam	30 cc 20 L-1

Fuente: INIAF – Proyecto Banano

Figura 33. Fumigación preventiva en vivero de endurecimiento



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

20 FERTILIZACIÓN

Aplicación de fertilizante foliar o edáfico:

- Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Potasio (K) según análisis de sustrato.
- Micronutrientes como Ca, Zn, Mg, B si es necesario.

21 SELECCIÓN DE PLANTINES CON VARIACIÓN SOMACLONAL

La variación somaclonal es un fenómeno que se produce en las plantas que se producen a través de cultivo *in vitro*. Esta variación se refiere a los cambios genéticos que ocurren en las plantas durante el proceso de cultivo *in vitro*, lo que puede resultar en plantas con características diferentes a las de las plantas madre.

21.1 Control y monitoreo de la variación somaclonal

Es fundamental monitorear las plantas producidas mediante cultivo *in vitro* para detectar posibles variaciones somaclonales, tanto durante el proceso de aclimatación como en el de endurecimiento en vivero. Un seguimiento visual permite identificar y descartar oportunamente los plantines de banano que presenten dichas variaciones, ya que estas pueden afectar negativamente la producción en campo, dando lugar a plantas improductivas o susceptibles a plagas y enfermedades.

La selección de plantas con características no deseadas es una estrategia útil para controlar la variación somaclonal, por lo que, durante el proceso de selección, deben descartarse ejemplares que presenten rasgos indeseables como albinismo, tallos débiles, crecimiento lento, pecíolos extremadamente cortos o hojas deformes que afecten la fotosíntesis.

Figura 34. Plantines con variación semiclonal



Fuente: INIAF – Proyecto Banano

21.2 Características de entrega de plantines

Altura de plantas

Los plantines deben ser vigorosos, con una altura promedio de 30 cm, medida desde la base del pseudotallo hasta la inserción en forma de “V” de la última hoja emitida por la planta.

Diámetro de pseudotallo

El pseudotallo debe presentar un diámetro mínimo de 10 mm, medido a la altura del cuello de la planta. Este valor garantiza que el plantín cuente con la robustez necesaria para un adecuado desarrollo en campo.

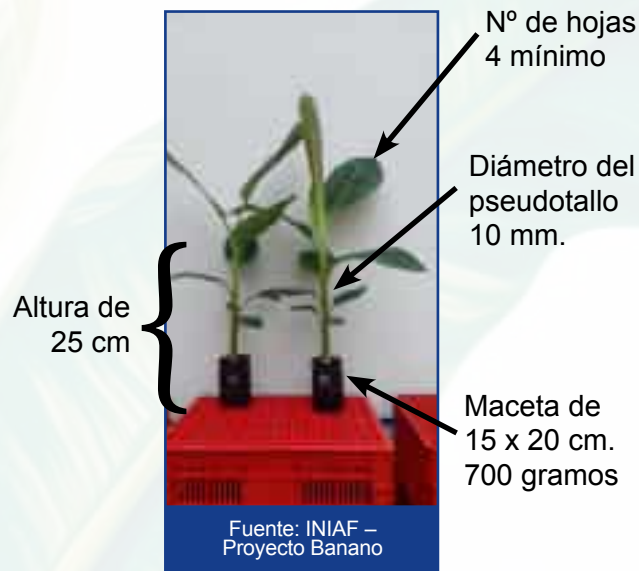
Numero de hojas

Los plantines deben contar con un mínimo de cuatro hojas sanas y bien desarrolladas, lo cual favorece una adecuada actividad fotosintética y mejora el prendimiento en el campo definitivo.

Raíces

Los plantines deben presentar un sistema radicular bien desarrollado, con raíces sanas, vigorosas y de coloración blanquecina, indicativa de actividad fisiológica adecuada. El sistema radicular es fundamental para asegurar una eficiente absorción de agua y nutrientes, así como una rápida adaptación y prendimiento en el campo definitivo.

Figura 35. Características de plantines comerciales



22 BIBLIOGRAFÍA

- Guaita, D. (2018). Efectos de ácidos húmicos y fúlvicos en vitro-plantas de banano cv Williams en condiciones de vivero (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Ingeniería Agronómica. Ecuador
- Josekutty, P. C., Cornelius, S. S., & Kilafwasru, T. N. (2003). Micropropagation of four banana cultivars in Micronesia. *Micronesica*, Supplement 7, 77–81.
- Romero Alves, M. E. (2018). Aplicación del cultivo de tejidos in vitro (CTV) para la propagación y mejora genética de plantas. Universidad Nacional de La Plata.
- Saranya, S., Gayathri, M. K., Krishna, R. R., Bindumole, V. R., & Remakanthan, A. (2024). A Rapid and Cost Effective Hardening Method for Tissue Culture Derived Banana Plantlets. *Plant Tissue Culture & Biotechnology*, 34(1), 11–24.
- Scaranari, C., Leal, P. A. M., & Mazzafera, P. (2009). Shading and periods of acclimatization of micropropagated banana plantlets cv. Grande Naine. *Scientia Agricola*, 66(3), 331–337.
- Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria (SENASAG). (2015). Resolución Administrativa N° 102/2015. Manual de procedimientos para la certificación de viveros.
- Sherkar, S. H., & Sherkar, H. D. (2021). Effect of Nutrient Medium pH on in vitro Shoot Multiplication of Banana. *International Journal of Life Sciences*, Special Issue A16, 71-77.
- Smith, R. H. (2013). *Plant tissue culture: Techniques and experiments* (3.^a ed.). Academic Press / Elsevier.

INIAF - MDRyT



iniaz.mdryt



iniaz.mdryt



iniaz.gob.bo



MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE BANANO Y PLÁTANO

PROYECTO:
DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS PARA MEJORAR EL SISTEMA DE
PRODUCCIÓN DEL BANANO Y PLÁTANO EN COCHABAMBA Y LA PAZ

**INSTITUTO NACIONAL
DE INNOVACIÓN AGROPECUARIA Y FORESTAL - INIAF**
Oficina Nacional: Calle Cañada Strongest N° 1573
Telf: 2124404 - La Paz, Bolivia



BOLIVIA GOBIERNO DE LA REPÚBLICA
Ministerio de Agricultura, Ganan y Pecuaria

iniaz
Instituto Nacional de Innovación en
Agropecuaria y Forestal