

PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN IN VITRO DE FRESA

(*Fragaria x ananassa* Duch.)

Javier J. Gonzales-Arteaga
Juan Rodríguez-Layza
Ladislao C. Romero-Rivas
Adelmo Párraga-Quintanilla
Julio A. Olivera-Soto
Paulo Vásquez Garay-Torres



PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN IN VITRO DE FRESA

(Fragaria x ananassa Duch.)

Autores

Javier J. Gonzales-Arteaga

Juan Rodríguez-Layza

Ladislao C. Romero-Rivas

Adelmo Párraga-Quintanilla

Julio A. Olivera-Soto

Paulo Vásquez Garay-Torres

Protocolo de propagación *in vitro* de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Reservados todos los derechos. Está prohibido, bajo las sanciones penales y el resarcimiento civil previstos en las leyes, reproducir, registrar o transmitir esta publicación, íntegra o parcialmente, por cualquier sistema de recuperación y por cualquier medio, sea mecánico, electrónico, magnético, electroóptico, por fotocopia o por cualquiera otro, sin la autorización previa por escrito al Centro de Investigación y Desarrollo Ecuador (CIDE).

Copyright © 2023

Centro de Investigación y Desarrollo Ecuador

Tel.: + (593) 04 2037524

<http://www.cidecuador.org>

ISBN: 978-9942-636-54-6

<https://doi.org/10.33996/cide.ecuador.PF2636546>

Dirección editorial: Lic. Pedro Misacc Naranjo, Msc.

Coordinación técnica: Lic. María J. Delgado

Diseño gráfico: Lic. Danissa Colmenares

Diagramación: Lic. Alba Gil

Fecha de publicación: diciembre, 2023



Guayaquil – Ecuador

La presente obra fue evaluada por pares académicos
experimentados en el área

Catalogación en la Fuente

Protocolo de propagación *in vitro* de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) / Javier J. Gonzales-Arteaga, Juan Rodríguez-Layza, Ladislao C. Romero-Rivas, Adelmo Párraga-Quintanilla, Julio A. Olivera-Soto y Paulo Vásquez Garay-Torres . - Ecuador: Editorial CIDE, 2023.

36 p.: incluye tablas, figuras; 21,6 x 29,7 cm.

ISBN: 978-9942-636-54-6

1. Protocolo - propagación *in vitro* de fresa

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Vicerrectorado de Investigación e Instituto Central de Investigación.

Al equipo técnico del proyecto de investigación: "Desarrollo de protocolos en la propagación *in vitro* de orquídeas y cultivos de importancia económica para la provincia de Oxapampa", que permitieron la ejecución de la micropropagación de fresa.

Agradecimiento	04
1 Presentación	07
2 Introducción	08
3 Equipamiento	10
Equipos	10
Materiales e insumos	11
En laboratorio	11
En invernadero	11
4 Cultivo <i>in vitro</i> de fresa	12
Infraestructura del invernadero	12
Área de preparación de plantas madres	12
Área de aclimatación	13
Sistema de riego automatizado	13
Preparación de plantas madres en invernadero	13
Manejo de plantas madres	13
Control fitosanitario	14
Fertilización	14
Pretratamiento	14
Elección de planta madre	15

5 En el laboratorio	16
Lavado	16
Desinfección del material vegetal, muestra yemas de corona	16
Extracción de yemas	19
Establecimiento <i>in vitro</i>	19
Multiplicación <i>in vitro</i>	20
Enraizamiento <i>in vitro</i>	21
Condiciones y tiempo de cultivo <i>in vitro</i>	22
6 En invernadero	23
Sustrato	23
Aclimatación de vitroplántulas	23
7 Flujograma	26
Desinfección del material vegetal, muestra yemas de corona	26
Establecimiento, multiplicación y enraizamiento <i>in vitro</i> en fresa	27
8 Composición de soluciones	28
9 Composición de los medios de cultivo	29
Bibliografía	30
Semblanza de los autores	32

Presentación

1

La Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, el Vicerrectorado de Investigación, el Instituto Central de Investigación, y el proyecto "Desarrollo de protocolos en la propagación *in vitro* de orquídeas y cultivos de importancia económica para la provincia de Oxapampa", presentan el **Protocolo de propagación *in vitro* de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.)** producto de la investigación en el laboratorio de Biotecnología Vegetal e Invernadero de las instalaciones del Programa de Agronomía filial Oxapampa.

El protocolo ha sido validado en las variedades ‘Aromas’, ‘Albión’ y ‘Camarosa’; sin embargo, podría ser utilizado para multiplicar otras variedades de este cultivo (para programas de introducción y recambio varietal).

Por último, mencionar que el proceso de la micropropagación en fresa ha sido posible gracias al trabajo del equipo investigador y técnico que ha venido laborando en la ejecución del proyecto "Desarrollo de protocolos en la propagación *in vitro* de orquídeas y cultivos de importancia económica para la provincia de Oxapampa".

Introducción

2

El cultivo *in vitro* es la principal técnica del cultivo de tejidos vegetales para la propagación de genotipos a escala comercial (Briones, 2015) y obtener plantas libres de enfermedades; esto implica trabajar en condiciones asépticas utilizando un medio de cultivo y reguladores de crecimiento adecuados (Murashige & Skoog, 1962). La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) es un híbrido adaptado a zonas templadas, sub templadas y constituye un alimento nutritivo e importante en la economía (Karim et al., 2015); por otro lado, la micropropagación de la Variante ‘Aromas’ es a partir de yemas de corona o de estolones (Gonzales-Arteaga et al., 2022) de las cuales se obtiene una gran cantidad de vitroplántulas que pueden ser llevadas a aclimatación y salir a campo productivo.

Los tejidos deben ser seleccionados para el establecimiento inicial de plantas completamente sanas e intactas, para la desinfección de la superficie con hipoclorito de sodio (NaOCl) a una concentración de 1 a 3% (Roca & Mroginski, 1993). En la micropropagación de plantas se utiliza como fuente de macro y micronutrientes al medio Murashige y Skoog (MS) que, en combinación con reguladores de crecimiento y una fuente de energía generalmente sacarosa, permite la obtención de plantas *in vitro* a partir de estructuras denominadas explantes. En fresa, con MS + 2,0 mgL⁻¹ de bencil amino purina (BAP), se ha logrado una regeneración del 82% y 7 brotes por explantes; mientras que, en combinación de BAP, ácido naftalen acético (ANA) y

ácido giberélico (AG₃), en 2,5, 0,5 y 0,5 mgL⁻¹, respectivamente, produjo el 98% y 20 brotes por explante (Badal et al., 2019).

En cuanto a fresa cv. 'Sweet Charlie' y 'Winter Dawn' se logró el establecimiento y multiplicación en MS más la adición de diferentes cantidades de 6-benciladenina y kinetina, y para el enraizamiento con ácido indol-3-butírico (IBA) (Dhukate et al., 2021). Por otro lado, en cv. 'Santa', 'Fanta', 'Berrystar', 'Honeybell' y 'Okhyang', en MS + kinetina a 2,0, 3,0 y 4,0 mgL⁻¹ desarrolló callos, que después de 8 semanas no produjo brotes; mientras que, con 0,5 mgL⁻¹, indujo brotes que mejoró al sub cultivarlos en IBA a 0,75 mgL⁻¹ (Naing et al., 2019). En relación a la multiplicación de cv. 'Fortuna', con una concentración de 1,0 mgL⁻¹ de BAP en MS en varios subcultivos, generó 8,3 brotes por explante en promedio (Mohamed et al., 2018). Desde que se obtuvo plántulas de fresa libre de virus por la técnica de micropropagación *in vitro*, el interés se extendió al uso preferido por los viveros e institutos de investigación para sus reservas (Martinelli, 1992).

La importancia de contar con un protocolo para la micropropagación de fresa pondera en tener procedimientos estandarizados que permitan un eficiente progreso en la obtención de semilla vegetativa y así garantizar la inversión en la producción. Por tal motivo, la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión a través del Vicerrectorado de Investigación y el Instituto Central de Investigación, desarrolló el protocolo de micropropagación del cultivo de fresa variedad 'Aromas' a partir de yemas de corona, efectuado en el laboratorio de Biotecnología vegetal, Filial Oxapampa y en el ámbito del proyecto "Desarrollo de protocolos en la propagación *in vitro* de orquídeas y cultivos de importancia económica para la provincia de Oxapampa", iniciativa que busca impulsar el cultivo *in vitro* de fresa *Fragaria x ananassa* Duch. a favor de los agricultores de esta fruta; también, como un medio para la conservación de germoplasma.

Equipamiento

3

Equipos

- Balanza analítica RADWAG AS 220.R2 PLUS;
- Balanza de precisión NIMBUS;
- Agitador magnético VELP;
- Multiparámetro HANNA (potenciómetro);
- Horno microondas SAMSUNG;
- Bomba peristáltica con cabezal Masterflex COLE-PARMER;
- Autoclave vertical EFE Clave;
- Estufa BINDER;
- Conservadora de frío ILUMI;
- Cámara de flujo laminar EFE Clave;
- Deshumecedor BIONAIRE;
- Sistema de ventilación COLDPOINT;
- Ablandador NOYI;
- Destilador de agua GFL;
- Termohigrómetro TRACEABLE;
- Estantes con sistema de iluminación LED;
- Temporizador horario ALION;
- Refrigeradora SAMSUNG;
- Sistema de riego por aspersión;
- Mochila fumigadora de 15 litros; y,
- Pulverizador manual.

Materiales e insumos

En laboratorio

- **Materiales de plástico:** bandejas, jarras graduadas, vaso de precipitados de 50, 100, 1000 y 2000 mL, probeta de 500 y 100 mL, bandejas de pesado, pisetas, bolsas de polipropileno, Parafilm y otros).
- **Materiales de vidrio:** vaso de precipitados de 100, 500 y 1000 mL, probeta de 50 mL, botellas de 100, 250 y 1000 mL, tubos de ensayo de 25x150 mm, placas de Petri, frasco, mechero y tapas para tubos de ensayo;
- **Materiales de metal:** espátula/cuchara, gradillas para tubos de prueba, pinzas con ranuras y mangos para hojas de bisturí N°10 y 11.
- **Materiales de desinfección:** jabón líquido antibacterial, NaOCl, tween-20 y etanol al 96 y 70%.
- **Medio de cultivo:** solución concentrada de sales y vitaminas (Murashige y Skoog, 1962, MS), reguladores de crecimiento (BAP y Ácido indolacético, AIA), sucrosa y agar agar.
- **para ajustar pH:** hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCl).

En invernadero

- **Materiales para colecta:** papel toalla, bolsas plásticas, guantes, rotulador y cinta masking.
- **Materiales e insumos para la aclimatación de vitroplántulas:** bandejas de plástico, bandejas semilleras, macetas, etiquetas, piseta, pinzas, mechero, placas de Petri y etanol 96°.
- **Sustratos:** Jiffys, Premix N°3, arena, humus y tierra agrícola;
- **Insumos para manejo agronómico de plantas madre y vitroplántulas:** fungicida y bactericida Kasumin (kasumicina) y Amistar Top (azoxystrobin + difeconazole); acaricida Konga (etoxazole + abamectin) y Acaristin; aceite agrícola; insecticida Cyperklin (cipermetrina); fertilizante foliar Pantera Nitro (macro y nutrientes) y Nitrofoska N - P₂O₅ - K₂O - (MgO- SO₃) 12 - 12 -17 (2 - 20) de aplicación edáfica.

Cultivo in vitro de fresa

4

Para la propagación *in vitro* es importante contar con un laboratorio distribuido en ambientes de lavado, preparación de medios y auto clavado, inoculación de explantes e incubación de las etapas de la micropropagación (establecimiento, multiplicación y enraizamiento); asimismo, un invernadero para la preparación de las plantas donadoras de explantes y la aclimatación de la vitroplantas generadas en el laboratorio.

Infraestructura del invernadero

Área de preparación de plantas madre

Las plantas madre deben estar en un área específica e identificada (Figura 1), bajo cobertura que no permita la entrada de lluvia para poder controlar el riego y evitar pudriciones. Debe estar lo más iluminado posible, disponer de instalación de agua y sistema de riego por nebulización

Área de aclimatación

El área de aclimatación (Figura 2) tiene que ser un lugar aséptico, cerrado, seco para evitar contaminación por hongos ambientales, iluminación gradual que va a depender de las vitroplantas de fresa, mantener la humedad del sustrato a capacidad de campo.

Figura 1
Identificación del invernadero.



Figura 2
Área de aclimatación.



Sistema de riego automatizado

El invernadero cuenta con riego por nebulización (Figura 3) programado para treinta (30) minutos inter diario (invierno) y, diario (verano).

Preparación de plantas madre en Invernadero

Manejo de plantas madre

La planta ‘madre’ o donadora de explantes debe tener vigor, sanidad, buen desarrollo y abundante follaje (Figura 4) el cual se consigue con un adecuado sustrato, bajo condiciones de invernadero y riegos según el régimen de calor.

Figura 3
Sistema de riego por nebulización.



Figura 4
Plantas madres de fresa.



Control fitosanitario

El control fitosanitario (Figura 5) se realizó con la aplicación de fungicida Amistar Top (Azoxistrobina + Difenconazole), acaricida Konga (Izopropil-alkohol, 1,0 ml/10L) e insecticida Argón (imidacloprid, 1,0 ml/L) en 10 L de agua.

Fertilización

Se fertilizó con Nitrofoska, 0,57 g/maceta y fertilizante foliar Pantera Nitro, 5 ml/L de acuerdo al requerimiento de las plantas.

Pretratamiento

A la planta madre seleccionada, tres (3) días antes, se aplica fungicida-bactericida Kasugamicina 1,0 mL/L de agua (Figura 6) con el propósito de eliminar la posible presencia de hongos y bacterias.

Figura 5
Control fitosanitario de plantas madre de fresa.



Figura 6
Aplicación de Kasugamicina.



Elección de planta madre

Extracción de la planta seleccionada de la maceta (Figura 7) con total asepsia en la manipulación. Eliminar el sustrato residual de las raíces, mediante un lavado gradual con agua de caño, luego envolver en papel toalla e introducir en una bolsa de polipropileno nueva, rotulada, con fecha y número de muestra (Figura 8). En una bandeja desinfectada, se colocan las bolsas que contienen las muestras y se cubren con tela blanca limpia y desinfectada para ser entregada inmediatamente al Laboratorio de Biotecnología Vegetal.

Figura 7
Extracción de la planta madre seleccionada.



Figura 8
Muestra colectada y rotulada.



Lavado

Con el lavado del material vegetal se busca reducir la incidencia de contaminación microbiana causada por hongos y bacterias durante el establecimiento del cultivo *in vitro*. Es importante tener en cuenta que el proceso de desinfección dependerá de la procedencia del explante (campo o invernadero).

Desinfección del material vegetal, muestra yemas de corona

Para llevar a cabo el proceso de desinfección de coronas de fresa, se procede previamente a extraer el material vegetal de las bolsas plásticas y colocarlo en bandejas limpias (Figura 9). En seguida, se retira el exceso de sustrato presente mediante un lavado con agua de caño. Posteriormente, con hojas de bisturí N° 10 se defolian (Figura 10) y se retiran las raíces de las plantas, teniendo cuidado de no dañar las coronas (Mamani Gonzales-Arteaga et al., 2022).

Inmediatamente después, se realiza un lavado de las coronas en agua corriente de caño por treinta (30) minutos, y en un vaso de precipitados que contiene una solución de jabón líquido antibacterial, 15 mL/L, se continúa con el lavado durante cinco (5) minutos, (Figura 11), luego se realizan seis (6) enjuagues con agua auto clavada.

Figura 9
Material vegetal de fresa.



Figura 10
Defoliación de plantas de fresa.



En la cámara de flujo laminar, se sumergen las coronas en etanol al 70% durante un (1) minuto, en un recipiente limpio y estéril (Figura 12).

Figura 11
Lavado de coronas con jabón líquido antibacterial.



Figura 12
Coronas sumergidas en etanol al 70%.



Se continúa con una inmersión en una solución al 2,0% de NaOCl + 2 gotas de Tween 20 por cada 100 mL durante veinticinco (25) minutos (Figura 13). Luego se realizan tres enjuagues con agua destilada auto clavada y en agitación de dos (2) a tres (3) minutos, cada vez (Figura 14).

Figura 13
Inmersión de las coronas en NaOCl.

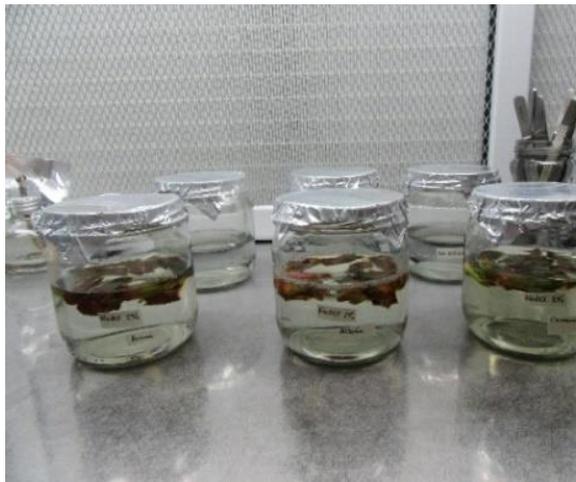


Figura 14
Enjuague con agua destilada auto clavada.



Finalmente, se realiza una inmersión en solución antioxidante de ácido ascórbico 300 mg/L + ácido cítrico 100 mg/L estéril, durante diez (10) minutos (Figura 15).

Figura 15
Inmersión en solución antioxidante.



Extracción de yemas

En la cámara de flujo laminar se procede con la extracción de las yemas de corona, con el uso de un estereoscopio binocular, pinzas, mangos y hoja de bisturí N° 11 (Figura 16).

Establecimiento *in vitro*

Las yemas de corona extraídas (Figura 17) se siembran individualmente en 9 ml de medio de establecimiento preparado con sales nutritivas y vitaminas MS, suplementado con 0,5 mg/L de BAP, 0,6 mg/L de AIA, 30 g/L de sucrosa, 9 g/L de agar, y el pH ajustado a 5,6 contenido en tubos de ensayo de 16x150 mm; el medio de cultivo debe estar previamente esterilizado en autoclave a 121°C y 0,1 MPa por veinte (20) minutos. En esta fase, se espera que las yemas de corona desarrollen brotes vigorosos.

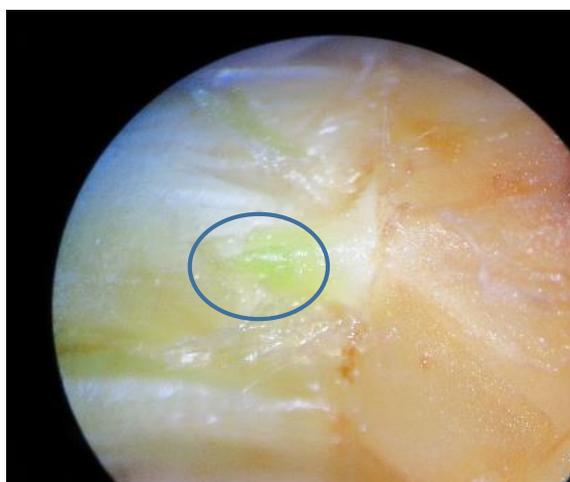
Figura 16

Extracción de yemas de corona.



Figura 17

Yema de corona de fresa.



Después de la siembra, los tubos de ensayo se sellan con Parafilm y se codifican (especie, variedad, medio de cultivo, explante y fecha de siembra). Finalmente, las gradillas con los tubos de ensayo son trasladadas a la sala de incubación a condiciones de 23°C, 60% de humedad relativa y fotoperiodo de 16 horas luz (Figura 18). Durante los primeros 8 días

después de la siembra (dds), se debe hacer un monitoreo de los explantes para identificar la presencia de contaminación causada por hongos y/o bacterias; de darse el caso, el tubo debe ser retirado de la sala de incubación para su descarte. Las yemas deberán permanecer en incubación durante 32 días.

Multiplicación *in vitro*

La multiplicación *in vitro* se realiza a partir de los treinta y dos (32) días, momento en el cual, las yemas establecidas *in vitro* han desarrollado brotes vigorosos (Figura 19) y se encuentran listos para la siguiente fase.

Figura 18

Incubación de yemas de corona en medio de establecimiento.



Figura 19

Brotos de yema de corona para la fase de multiplicación.



En la cámara de flujo laminar de los brotes establecidos (32 dds) con pinzas largas, se procede a extraerlos y se sitúan sobre papel esterilizado en placas de Petri y luego se realiza la individualización con bisturí N° 11 (Figura 20). Seguidamente, con ayuda de pinzas largas, se toma un brote y se siembra individualmente en 9 ml de medio de cultivo para la multiplicación *in vitro*, MS + vitaminas, suplementado con 0,5 mg/L de BAP, 30 g/L de sucrosa, 9 g/L de agar, y el pH ajustado a 5,6 contenido en tubos de 25x150 mm previamente esterilizado en autoclave a 121°C y 0,1MPa por veinte (20) minutos.

Posteriormente, los tubos de ensayo se sellan con Parafilm y se rotulan; finalmente, las gradillas con los tubos de ensayo son llevadas a la sala de incubación a condiciones de 23°C, 60% de humedad relativa y fotoperiodo de 16 horas luz, hasta los 32 dds.

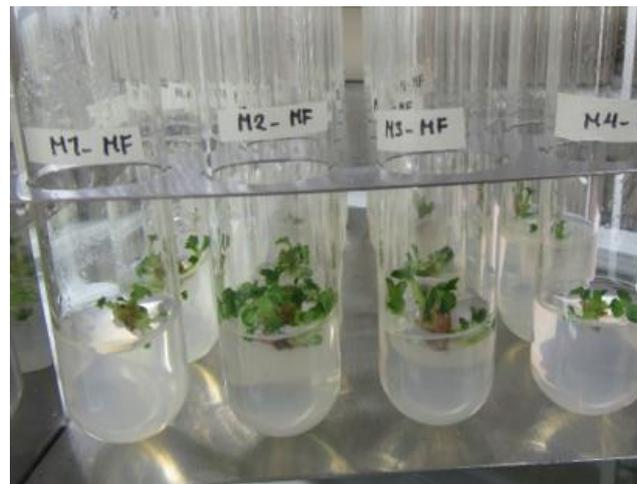
Enraizamiento *in vitro*

Después de 32 dds de incubación en medio de multiplicación, se obtienen numerosos brotes (Figura 21) que empiezan a competir entre sí y es momento de seleccionar los tubos para proseguir con la fase de enraizamiento, donde se espera la obtención de vitroplántulas completas, es decir, que desarrollen un buen sistema radicular acompañado de una buena presencia y desarrollo de hojas.

Figura 20
Individualización de brotes.



Figura 21
Brotos de yemas de corona en medio de multiplicación.



En la cámara de flujo laminar, con pinzas largas, se procede a extraer los brotes de los tubos y se colocan sobre papel estéril dentro de una placa de Petri. Luego, con pinzas y bisturí N° 10, se procede a individualizar los brotes, escindiendo hojas presentes hasta reducirlos a pequeñas coronas. Con pinzas largas, se cogen las pequeñas coronas y se siembran individualmente en tubos de 25x150 mm conteniendo 12 mL de medio de enraizamiento, preparado con sales nutritivas y vitaminas MS + 30 g/L de sucrosa con 9 g/L de agar y pH 5,6; el medio debe estar previamente esterilizado en autoclave a 121°C y 0,1 MPa por veinte (20) minutos. Los tubos de ensayo se sellan con Parafilm y se rotulan;

finalmente, las gradillas con los tubos de ensayo son llevadas a las mismas condiciones de incubación de la fase de establecimiento y multiplicación. Después de 32 días de incubación, las pequeñas coronas desarrollan nuevas hojas y un buen sistema radicular con numerosas raíces, dando lugar a vitroplántulas completas (Figura 22).

Figura 22

Vitroplántulas de fresa var. 'aromas' obtenida de yema de corona.



Condiciones y tiempo de cultivo *in vitro*

Las condiciones microclimáticas en el área de incubación del laboratorio que favorecen el crecimiento de los explantes durante su establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro* deben ser: temperatura de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, humedad relativa alrededor del 60%, fotoperiodo de 16 horas luz e intensidad luminosa de 14 a $16 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ en la posición del tubo de ensayo.

En invernadero

6

Sustrato

Se recomienda dos (2) tipos de sustrato para la aclimatación de las vitroplántulas de fresa: Jiffys (disco de turba compactada) y Premix N°3, ambos con buena capacidad de retención de humedad y aireación. Previamente, se remojan los Jiffys en agua destilada un día antes del trasplante (Figura 23) con la finalidad de hidratar y brindar humedad necesaria a las vitroplántulas.

Aclimatación de vitroplántulas

Las vitroplántulas proveniente del laboratorio contenidas en tubos de ensayo son trasladadas al invernadero en una bandeja desinfectada y cubierta con tela limpia, luego son extraídas con pinzas (Figura 24) y bisturíes previamente sumergidas en alcohol 96°, a continuación se flamea en mechero y se deja enfriar en cada extracción de las vitroplántulas, seguido se lavan las raíces con agua destilada (Figura 25) para eliminar el medio de cultivo residual y así evitar la pudrición radicular durante la aclimatación. Se trasplanta en cada hoyo de la bandeja semillera conteniendo el sustrato (Jiffys) previamente hidratados. Una vez instaladas las vitroplántulas, se cubre la bandeja semillera con bolsa de polipropileno, (Figura 26) y se mantiene bajo sombra (cámara húmeda); todo el proceso se ejecuta en forma consecutiva el mismo día.

Figura 23

Jiffys en agua destilada un día antes del trasplante.



Figura 24

Extracción de las vitroplántulas con pinzas previamente desinfectadas.



Figura 25

Lavado de las raíces con agua destilada.



Figura 26

Bandeja cubierta con bolsa polipropileno.



Las vitroplántulas son mantenidas durante quince (15) días en condiciones ambientales bajo sombra y a los siete (7) días se retira el plástico de polipropileno (Figura 27) y se monitorea la humedad del sustrato para evitar la deshidratación. Posteriormente, se traslada la bandeja semillera al invernadero durante quince (15) días adicionales (Figura 28).

Transcurrido quince (15) días en el invernadero, se trasplantan a las macetas de 1 kg con sustrato Premix N°3 (Figura 29) para su crecimiento y desarrollo (Figura 30).

Figura 27

Retiro de plástico de polipropileno (cámara húmeda).



Figura 28

Bandeja semillera en el invernadero.



Figura 29

Trasplante de vitroplántulas en macetas.



Figura 30

Vitroplántulas en crecimiento y desarrollo en invernadero.



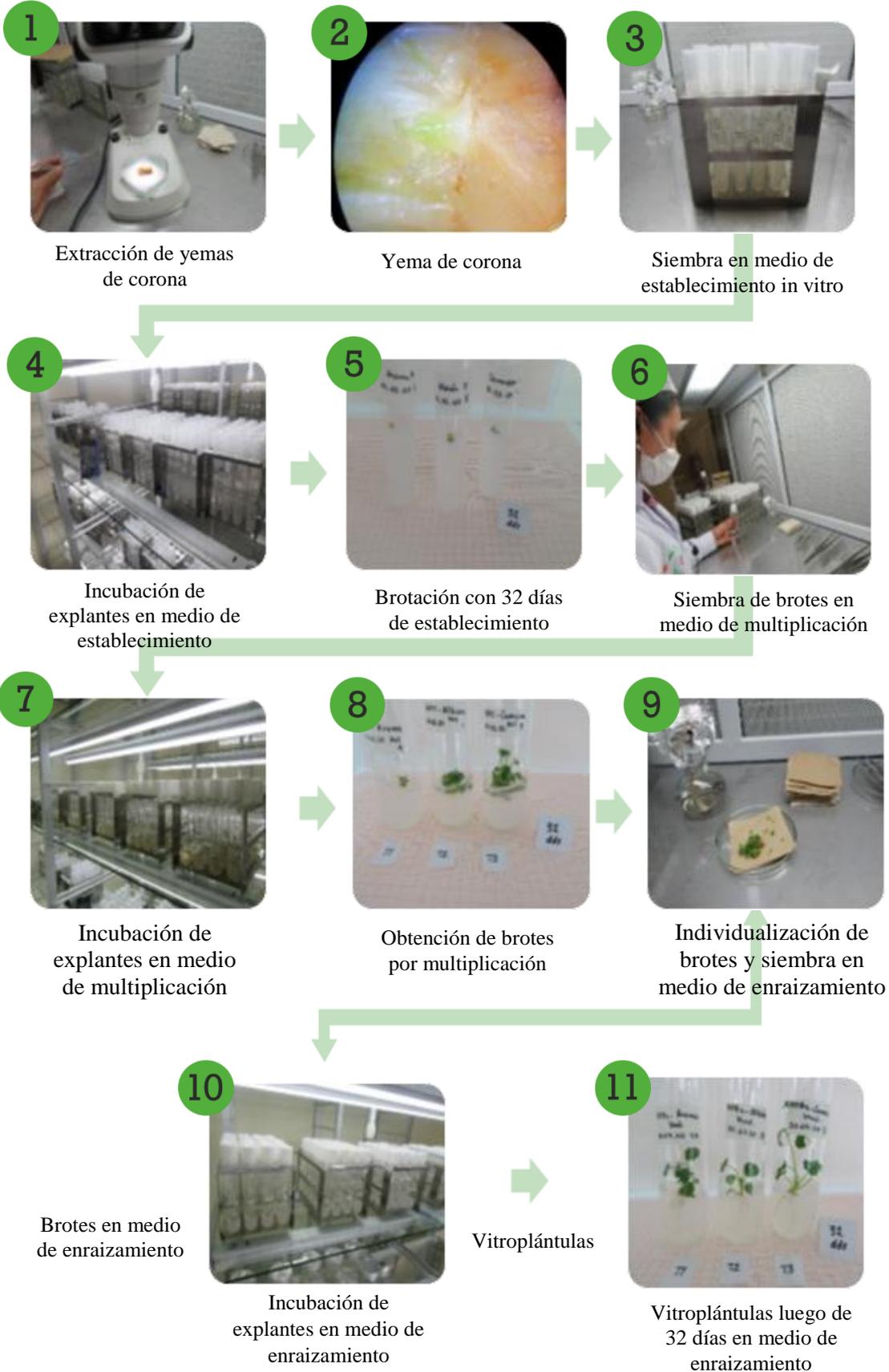
Flujograma

7

Desinfección del material vegetal, muestra yemas de corona



Establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro* en fresa



Composición de soluciones

8

Composición de soluciones nutritivas medio MS (Murashige y Skoog, 1962)

Medio MS	
Macronutrientes (g/L)	
NH ₄ NO ₃	1,65
KNO ₃	1,90
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,37
CaCl ₂ .aq	0,33
KH ₂ PO ₄	0,17
Micronutrientes (mg/L)	
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,20
MnSO ₄ .H ₂ O	16,90
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,60
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Na ₂ .EDTA	37,30
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,80
Vitaminas (mg/L)	
Mioinositol	100,0
Glycina	2,0
Acido Nicotínico	0,5
Piridoxina	0,5
Thiamina	0,1

Composición de los medios de cultivo

9

Medio de establecimiento *in vitro*

Macro y micronutrientes MS (solución)	
BAP (6-Bencilaminopurina)	0,5 mg/L
AIA (Ácido indolacético)	0,6 mg/L
Sucrosa	30,0 g/L
Agar	9,0 g/L
pH	5,6

Medio de multiplicación *in vitro*

Macro y micronutrientes MS (solución)	
BAP (6-Bencilaminopurina)	0,5 mg/L
Sucrosa	30,0 g/L
Agar	9,0 g/L
pH	5,6

Medio de enraizamiento *in vitro*

Macro y micronutrientes MS (solución)	
Sucrosa	30,0 g/L
Agar	9,0 g/L
pH	5,6

Bibliografía

- Badal, M. N. U., Shoyeb, M. A. R., Sarkar, A., Rahman, M. S., & Rahman, S. M. (2019). Clonal Propagation of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) through In vitro Runner Tip Culture through Incorporation of Growth Hormones. *Biotechnology Journal International*, 22(4), 1–9. <https://doi.org/10.9734/bji/2018/v22i430063>
- Briones, M. V. (2015). Micropropagación: la técnica de “fotocopiado” de plantas. In S. Sharry, M. Adema, & W. Abedini (Eds.), *Plantas de probeta* (1ra. ed., pp. 112–120). http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento_completo_.pdf-PDFA.pdf?sequence=1
- Dhukate, M. R., Kher, M. M., Vadawale, A. V. & Giri, P. (2021). Protocol for micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa*) cv. ‘Sweet Charlie’ and ‘Winter Dawn.’ *Environmental and Experimental Biology*, 19(1), 1–6. <https://doi.org/10.22364/eeb.19.01>
- Gonzales-Arteaga, J. J., Romero-Rivas, L. C., Rodríguez-Layza, J. & Párraga-Quintanilla, A. (2022). Establecimiento in vitro de *Fragaria x ananassa* var. Aroma a partir de yemas de corona. *Manglar*, 19(4), 301–308. <https://doi.org/10.57188/manglar.2022.038>
- Karim, R., Ahmed, F., Krishna R., U., Ara, T., Islam, R., & Hossain, M. (2015). Varietal improvement of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) through somaclonal variation using in vitro techniques. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(4), 977–986.
- Martinelli, A. (1992). *Micropropagation of Strawberry (Fragaria spp.)* (Vol. 18, pp. 354–370). https://doi.org/10.1007/978-3-642-76422-6_19
- Mohamed, F. H., Elwan, W. M. W., Abdoun, M. I. E., & Hussein, M. A. A. (2018). Multiplication and Regeneration Potential in Strawberry genotypes using Different In Vitro Culture Methods and Growth Regulators. *Hortscience Journal of Suez Canal University*, 7(2), 47–54. <https://doi.org/10.21608/hjsc.2018.59126>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Naing, A. H., Kim, S. H., Chung, M. Y., Park, S. K., & Kim, C. K. (2019). In vitro propagation method for production of morphologically and genetically stable plants of different strawberry cultivars. *Plant Methods*, 15(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0421-0>

Roca, W., & Mroginski, L. (1993). Establecimiento de un laboratorio para el cultivo de tejidos vegetales. In *Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones* (pp. 1–17). CIAT. http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Cultivo_de_tejidos_en_la_agricultura.pdf



Javier J. Gonzales-Arteaga

jgonzalesa@undac.edu.pe

<http://orcid.org/0000-0001-6196-707X>

Biólogo y bachiller en ciencias biológicas, en la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú; Ms Sc en Mejoramiento Genético de plantas en la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú y doctorado en Educación, en la Universidad Cesar Vallejo, Trujillo-Perú. Docente universitario con más de 25 años de servicio, asesor de tesis de pre grado; Jurado Calificador de tesis de pre grado y de ingreso a la docencia universitaria. Entrenamiento a nivel de post grado en “Aspectos teóricos prácticos del mejoramiento de plantas por vías biotecnológicas”, en Universidad de Ciego de Ávila, Cuba. Ponente en 11 Congreso Latinoamericano de genética y 3° de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis ambiental. Puerto Vallarta, Jalisco, México. Además, ponente y asistente en congresos nacionales e internacionales de genética, mejoramiento genético de plantas y biotecnología. Autor y coautor de artículos en revistas científicas: Praxis (Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Cerro de Pasco – Perú), Biología (Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú, International Journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences (India), Ciencia Latina (México), Manglar (Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes-Perú), Agroindustrial Science (Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú) y en la Revista de investigaciones altoandinas (Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú). Revisor de manuscrito en la revista Ciencia y Agricultura (Colombia).



Juan Rodríguez-Layza

jrodriguezla@undac.edu.pe

<http://orcid.org/0000-0003-2663-2674>

Biólogo de la Universidad Nacional de Trujillo; Ms. Sc. en Suelos Universidad Nacional Agraria La Molina; Doctorado en Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible en la Universidad Nacional del Centro del Perú. En la actualidad, Docente principal en la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión en Biología general, Ecología, Fisiología vegetal, Microbiología y Bioquímica. Asesor de tesis de pre grado; Jurado Calificador de tesis de pre grado y de ingreso a la docencia universitaria; Autor y coautor de artículos en las revistas científicas: Praxis (Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Cerro de Pasco – Perú), Biología (Universidad Nacional San Marcos, Lima-Perú), Ciencia Latina (México), Manglar (Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes-Perú), Agroindustrial Science (Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú) y en la Revista de investigaciones altoandinas (Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú).



Ladislao C. Romero-Rivas

lromero@undac.edu.pe

<http://orcid.org/0000-0002-6598-3277>

Ingeniero Agrónomo, Ms Sc en Fitopatología y estudios de doctorado en Agricultura Sustentable en la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. Docente universitario. Formación complementaria en invernaderos en Bogotá y Cartagena Colombia, La Antigua Guatemala y San José Costa Rica. Asistente y ponente en congresos nacionales e internacionales de fitopatología y micología. Autor y coautor de artículos en revistas científicas: Praxis (Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Cerro de Pasco – Perú), Ciencia Latina (México), Manglar (Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes-Perú), Agroindustrial Science (Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú) y en la Revista de investigaciones altoandinas (Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú), Journal PLoS ONE(United States), Revista Peruana de Entomología (Lima, Perú), Revista Mexicana de Fitopatología (Texcoco, Mexico), Anales Científicos UNALM (Lima, Perú), Plant Disease Journal (United States).



Adelmo Párraga-Quintanilla

aparragaq@undac.edu.pe

<http://orcid.org/0000-0001-7392-9599>

Estudios universitarios realizados en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; estudios de Maestría en la Universidad Nacional del Centro del Perú. Estudios de Doctorado en la Universidad Nacional del Centro del Perú. Publicaciones: “Proximate analysis and aminoacid profiles of leaves, flowers, pods, and seeds of *erythrina edulis* from Peru”. “Supplementation of ground leaves of *Erythrina poeppigiana* and *Erythrina ulei* at concentrations of 1.5 and 3% in broiler diets as a complement to nutritional concentrates”. Publicaciones: “Jarabe de yacón: Principios y procesamiento. Centro Internacional de la Papa”. “Estudio fitobotánico de especies de *Erythrina*”. “Identificación taxonómica de especies de *Erythrina*. Provincia Oxapampa”. “Propagación Sexual y Asexual de Especies del Género *Erythrina*”. “Fenología de especies del género *Erythrina* en Oxapampa”. “Estudio de screening de metabolitos Secundarios de 29 muestras de *Erythrina*”.



Julio A. Olivera-Soto

agols4407@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-3470-1601>

Ingeniero Agrónomo colegiado con Maestría en Biotecnología Agrícola. Investigador agrario en cultivos hortofrutícolas con amplia experiencia en propagación de plantas, manejo agronómico. Experiencia en formulación y evaluación de proyectos de investigación de fondos concursables. Autor de manuales, folletos, trípticos, artículos científicos en revistas indexadas, artículos en revistas técnicas, videos técnicos. Docente de la carrera de Agronomía en diferentes universidades del país. Responsable de producción de plantas en vivero y laboratorio en entidades públicas y empresas privadas.



Paulo Vásquez Garay-Torres

opd_wo@yahoo.es

<https://orcid.org/0000-0001-7220-8642>

Ingeniero Agrónomo; Magister Scientiae en Desarrollo Rural Sostenible; Doctor en Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible; Especialista en cambio climático; Especialista en Huella Hídrica; Especialista en Gestión de Riesgos Ambientales; Especialista en Gestión sostenible de recursos hídricos a nivel de Cuencas Hidrográficas; Especialista en formulación de proyectos de irrigación y agrarios. Docente pregrado UNDAC, Docente posgrado UNCP.

CIDE

EDITORIAL



SEMBLANZA DE AUTORES



JAVIER J. GONZALES-ARTEAGA. Biólogo y bachiller en ciencias biológicas, en la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú; Ms Sc en Mejoramiento Genético de plantas en la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú y doctorado en Educación, en la Universidad Cesar Vallejo, Trujillo-Perú. Docente universitario con más de 25 años de servicio, asesor de tesis de pre grado; Jurado Calificador de tesis de pre grado y de ingreso a la docencia universitaria. Entrenamiento a nivel de post grado en "Aspectos teóricos prácticos del mejoramiento de plantas por vías biotecnológicas", en Universidad de Ciego de Ávila, Cuba. Ponente en 11 Congreso Latinoamericano de genética y 3° de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis ambiental. Puerto Vallarta, Jalisco, México. Además, ponente y asistente en congresos nacionales e internacionales de genética, mejoramiento genético de plantas y biotecnología. Autor y coautor de artículos en revistas científicas



JUAN RODRÍGUEZ-LAYZA. Biólogo de la Universidad Nacional de Trujillo; Ms. Sc. en Suelos Universidad Nacional Agraria La Molina; Doctorado en Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible en la Universidad Nacional del Centro del Perú. En la actualidad, Docente principal en la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión en Biología general, Ecología, Fisiología vegetal, Microbiología y Bioquímica. Asesor de tesis de pre grado; Jurado Calificador de tesis de pre grado y de ingreso a la docencia universitaria; Autor y coautor de artículos en las revistas científicas.



LADISLAO C. ROMERO-RIVAS. Ingeniero Agrónomo, Ms Sc en Fitopatología y estudios de doctorado en Agricultura Sustentable en la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. Docente universitario. Formación complementaria en invernaderos en Bogotá y Cartagena Colombia, La Antigua Guatemala y San José Costa Rica. Asistente y ponente en congresos nacionales e internacionales de fitopatología y micología. Autor y coautor de artículos en revistas científicas.



ADELMO PÁRRAGA-QUINTANILLA. Estudios universitarios realizados en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; estudios de Maestría en la Universidad Nacional del Centro del Perú. Estudios de Doctorado en la Universidad Nacional del Centro del Perú. Publicaciones: "Proximate analysis and aminoacid profiles of leaves, flowers, pods, and seeds of *Erythrina edulis* from Peru". "Supplementation of ground leaves of *Erythrina poeppigiana* and *Erythrina ulei* at concentrations of 1.5 and 3% in broiler diets as a complement to nutritional concentrates". Publicaciones: "Jarabe de yacón: Principios y procesamiento. Centro Internacional de la Papa". "Estudio morfobotánico de especies de *Erythrina*". "Identificación taxonómica de especies de *Erythrina*. Provincia Oxapampa". "Propagación Sexual y Asexual de Especies del Género *Erythrina*". "Fenología de especies del género *Erythrina* en Oxapampa". "Estudio de screening de metabolitos Secundarios de 29 muestras de *Erythrina*".



JULIO A. OLIVERA-SOTO. Ingeniero Agrónomo colegiado con Maestría en Biotecnología Agrícola. Investigador agrario en cultivos hortofrutícolas con amplia experiencia en propagación de plantas, manejo agronómico. Experiencia en formulación y evaluación de proyectos de investigación de fondos concursables. Autor de manuales, folletos, trípticos, artículos científicos en revistas indexadas, artículos en revistas técnicas, videos técnicos. Docente de la carrera de Agronomía en diferentes universidades del país. Responsable de producción de plantas en vivero y laboratorio en entidades públicas y empresas privadas.



PAULO VÁSQUEZ GARAY-TORRES. Ingeniero Agrónomo; Magister Scientiae en Desarrollo Rural Sostenible; Doctor en Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible; Especialista en cambio climático; Especialista en Huella Hídrica; Especialista en Gestión de Riesgos Ambientales; Especialista en Gestión sostenible de recursos hídricos a nivel de Cuencas Hidrográficas; Especialista en formulación de proyectos de irrigación y agrarios. Docente pregrado UNDAC, Docente posgrado UNCP.

ISBN: 978-9942-636-54-6



9789942636546