

MICROPROPAGACIÓN DE TRES VARIEDADES DE *Fragaria x ananassa* (“PORTOLA”, “ALBIÓN” Y “CAMINO REAL”)

[MICROPROPAGATION OF THREE VARIETIES OF *Fragaria x ananassa* (“PORTOLA”, “ALBIÓN” AND “CAMINO REAL”)]

Rodrigo Félix-Hernández
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE
ZACATECAS.

Yesenia López-López,
Miguel Alvarado-Rodríguez*
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS.

*Autor responsable
mialvaro2909@hotmail.com

R E S U M E N

Se logró establecer un protocolo para micropropagar tres variedades de *Fragaria x ananassa*, una especie de rápida oxidación al momento de cultivar *in vitro*. El establecimiento fue a partir meristemas aislados de estolones, los cuales se sembraron en el medio nutritivo MS suplementado con 0.5 mg/L de BA, presentando un índice de viabilidad de 50%, y contaminación no significativa. La respuesta de los meristemas se realizó en un intervalo entre 2 a 4 semanas. La tasa de multiplicación más elevada que se logró fue de 14 brotes por explante en el medio de cultivo MS suplementado con 0.5 mg/L de BA. Se obtuvieron raíces abundantes y vigorosas en medio MS sin Reguladores de Crecimiento Vegetal. Se consiguió que el 90% de las vitroplantas se aclimataran en un término de 45 días.

Palabras clave: *Fragaria x ananassa*,
micropropagación, estolones

ABSTRACT

A protocol has been established for the micropropagation of three varieties of *Fragaria x ananassa*, a species of rapid oxidation at the moment of *in vitro* cultivation. This protocol was established through planting meristems isolated from stolons in the MS nutritive medium supplemented with 0.5 mg/L of BA, presenting a viability of 50% and no significant pollution index. The response of the meristems was examined at an interval of 2 to 4 weeks. The highest multiplication rate achieved was 14 shoots per explant in the MS medium supplemented with 0.5 mg/L of BA. Abundant and vigorous roots in the MS medium were obtained without plant growth regulators. 90% of the *in vitro* plants were acclimated during a period of 45 days.

Key words: *Fragaria x ananassa*, micropropagation, stolons

INTRODUCCIÓN

La planta de fresa es herbácea, de porte bajo, generalmente no supera los 30 cm de altura; se reproduce asexualmente por medio de estolones y por corona.

En el contexto mundial México destaca entre los 10 principales países productores de fresa por el volumen de producción anual, el que ha presentado altibajos a través del tiempo, con una recuperación en años recientes respecto a 1966, cuando el país ocupó el segundo lugar en la producción mundial, con el 13% del volumen global.

Desde principios de 1950 el cultivo de fresa en México ha dependido del material vegetativo categorías Registrada y Certificada de E.U.A. ante la falta de un programa nacional para generar variedades y multiplicar planta libre de virus.

Cada año se importan de California, E.U.A. conservadoramente 20 millones de plantas de fresa, en su mayoría categoría Certificada, para utilizarlas en viveros.

El proceso de importación y reproducción de planta se repite cíclicamente dada la necesidad de renovar la plantación comercial cada año, debido a que por la insuficiencia de horas-frío y el ataque de enfermedades, la productividad y la calidad de la fruta bajan drásticamente.

En México los resultados de las investigaciones conducidas para identificar los climas idóneos para propagar plantas de fresa indican que Fresnillo, Zacatecas acumula en campo un mínimo de 300 horas-frío, lo cual ocurre en la primera quincena de noviembre.

METODOLOGÍA

ESTABLECIMIENTO.

El cultivo *in vitro* de *Fragaria x ananassa* se inició a partir de estolones, esto llevando a cabo un muestreo de estolones jóvenes sin raíz de las variedades Portola, Albión y Camino Real, en un rancho cerca a la Estación San José, Fresnillo Zacatecas, esto el mismo día de su uso para el cultivo *in vitro*. Para ello, se aplicó un lavado con agua corriente para retirar exceso de tierra, en seguida se envolvieron con papel periódico húmedo para evitar deshidratación de tejidos durante el transcurso de su transporte al laboratorio. En el laboratorio se lavaron con agua y jabón corriente para retirar los

residuos de suelo; se realizaron cortes para retirar hojas y dejar solamente las yemas apicales o ápices con una parte del callo de la planta; en un vaso de precipitados se colocaron los ápices, se agregó agua destilada, Nitrasan® y jabón líquido; se agitaron durante 5 min; se repitió una vez este último paso; a continuación los meristemos se transfirieron a una solución antioxidante (150 mg/L de ácido cítrico + 150 mg/L de ácido ascórbico + 150 mg/L de PVP) y aplicó vacío durante 5 min. En campana de flujo laminar y con instrumental estéril se realizó un lavado con etanol al 70% durante 30 segundos; la yemas se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio (cloralex®) al 10% durante 20 min; luego se realizaron 3 enjuagues con agua destilada estéril. Las yemas se mantuvieron en agua destilada estéril hasta el momento de su disección con el auxilio de microscopio estereoscópico; finalmente las yemas se colocaron en cajas de petri estériles, para aislar los meristemos de 1 mm, con ayuda de un bisturí, pinzas y microscopio para hacer la extracción del meristemo.

Los meristemos se incubaron en el medio de cultivo MS adicionado con 0.5 mg/L de BA. y en medio de cultivo MS suplementado con antioxidantes (150 mg/L de ácido cítrico + 150 mg/L de ácido ascórbico + 2 ml/L de PPM).

MULTIPLICACIÓN

La etapa de multiplicación se realizó un mes después de la siembra, al segundo mes se realizó un nuevo subcultivo para determinar el promedio de generación de brotes en cada variedad de fresa. Para ello se colocó el brote en una placa Petri estéril y dentro de campana de flujo laminar, con ayuda de un bisturí y unas pinzas estériles se realizaron los cortes para obtener brotes por separado, una vez que se realizaron los cortes, se plantaron en medio de cultivo MS suplementado con 0.5 mg/L de la citocinina Bencil Aminopurina (BA) para la generación de más brotes.

ENRAIZAMIENTO

Brotes de dos o más cm de longitud, se sometieron al proceso de enraizamiento. Para lo anterior se usó el medio de cultivo MS sin Reguladores de Crecimiento Vegetal, ya que se considera una planta con buena generación de raíz.

ACLIMATACIÓN

Se consideraron 20 vitroplantas de cada variedad, con un sistema radicar bien desarrollado. Una vez que las plantas *in vitro* tuvieron abundante raíz, se extrajeron de los frascos y se colocaron en un recipiente con agua, se sumergen un poco y se dejaron en ese

ambiente durante una hora. Después de estar en agua durante el tiempo señalado, se comenzó a lavar la raíz, hasta retirar completamente el medio de cultivo; se colocaron las plantas en una base plástica y a continuación se colocaron en agua como un sistema hidropónico; se cambió el agua diariamente para evitar contaminación, después de 15 días de estar flotando en agua se retiraron las plantas y se plantaron en contenedor, usando como sustrato una mezcla de lombricomposta y agrolita, en una proporción de 1:1. Los contenedores con las plantas se colocaron en media sombra y regaron diariamente, (los primeros tres días se regaron 2 veces/ día). La aclimatación de fresa debe realizarse en el mes de diciembre ya que se obtiene una mejor respuesta de las plantas.

R E S U L T A D O S Y D I S C U S I Ó N

El índice de viabilidad de meristemos fue del 50% del total aislados y sembrados (Figura 1a); se presentó solamente un 2% de contaminación por bacterias, la metodología permitió obtener mejores resultados en comparación a los consultados. La formación de nuevos brotes se presentó al mes de iniciada la siembra (Figura 1b).

El medio nutritivo MS suplementado con 0.5 mg/L de BA se considera adecuado para la respuesta de meristemos así como una rápida proliferación de brotes.

En la etapa de inducción de brotación múltiple se presentaron datos muy diversos en cada una de las variedades de planta de fresa. Esta actividad se realizó durante tres generaciones, obteniéndose resultados diferentes en cada subcultivo para la variedad. Para la variedad Portola se obtuvo un promedio por generación de 4 brotes en el primer mes y en el segundo 14; para la variedad Camino Real se obtuvo un promedio de 8 brotes en el primer mes y 9 en el segundo, y para la variedad Albión se obtuvo un promedio de 3 brotes en el primer mes y 5 en el segundo mes. El medio MS resultó adecuado para la formación de raíz (Figura 1c), ya que según algunos autores no es necesario el uso de Reguladores de Crecimiento Vegetal en esta etapa. La formación de raíz se presentó a los 8 días después de estar en el medio, generando abundante raíz a los 40 días.

La metodología empleada para aclimatar fue la adecuada ya que el sistema hidropónico resultó muy conveniente para adaptar las plantas de una forma más rápida y sin estrés por la pérdida de humedad y ataque de patógenos al usar lombricomposta, lográndose un 90% de respuesta favorable, con una abundante formación de raíz a los 30 días de estar

FIGURA 1.

En panel 1a, meristemos de *Fragaria x ananassa* considerado para el establecimiento del cultivo *in vitro*. En panel 1b, Proliferación de brotes inducidos en la etapa de multiplicación en el primer mes. En panel 1c, Vitroplanta de *Fragaria x ananassa* enraizada para ser transferida a la etapa de aclimatación. En panel 1d, Planta de *Fragaria x ananassa* producida *in vitro*, aclimatada en contenedor, en el sustrato preparado con lombricomposta y agrolita, ambos al 50 %. (Figura 1d), resultado que se considera bastante aceptable.

**C O N C L U S I O N E S**

Se estableció un protocolo para la micropropagación de tres variedades de *F. x ananassa* a partir de meristemos de estolones, con una tasa de multiplicación de 14 brotes por explante en medio MS suplementado con 0.5 mg/L de BA, y se obtuvieron raíces abundantes en medio MS sin reguladores de Crecimiento Vegetal, con un 90% de vitroplantas aclimatadas en 45 días.

R E F E R E N C I A S

AGRALANZAROTE servicios insular agrario. 2012. Ficha técnica de cultivo de fresa

CASTILLO Alicia. Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo, primera edición, Pp: 47-50.

CASTRO F., J. y P.A. DÁVALOS G. 1990. Etiología de la "secadera" o pudrición de la raíz y corona de la fresa en Irapuato, Gto. Revista Mexicana de Fitopatología. 8(1):80-86

DÁVALOS Gonzales P.A. ET AL. 2011. Tecnología para sembrar viveros de planta de fresa. Celaya Gto., México, Pp: 10-21.

LÓPEZ González Patricia. 2001. Obtención y multiplicación de plantas de fresa libres de virus. Zacatepec Morelos México, Revista Mexicana de Fitopatología Pp: 5- 20.

SIAP. 2009. www.siap.gob.mx/idex.php, 5 de agosto del 2013.