

Multiplicación y enraizamiento in vitro de *Fragaria x ananassa* Duch. Var. 'Aromas'

In vitro multiplication and rooting of *Fragaria x ananassa* Duch. Var. 'Aromas'

Ladislao C. Romero-Rivas^{1*}, Javier J. Gonzales-Arteaga², Juan Rodríguez-Layza³,
Adelmo Párraga-Quintanilla⁴ y Julio A. Olivera-Soto⁵

Resumen

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch), es una fruta de amplio consumo humano; es una especie que se reproduce vegetativamente a partir de estolones. Actualmente la forma más adecuada de propagación de plantas de fresa es la micropropagación. Este método permite obtener plantas libres de patógenos. Los reguladores de crecimiento juegan un rol esencial en el proceso de micropropagación de plantas con características de interés agronómico. El objetivo del trabajo fue establecer un protocolo de multiplicación y enraizamiento de fresa Var. 'Aromas' probando diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento, tomando como explantes yemas de plántulas in vitro. Para la multiplicación de brotes se usaron yemas de coronas in vitro. Estos explantes fueron sembrados en medio MS suplementado con auxinas y citoquininas para la multiplicación de yemas. Para el enraizamiento se utilizaron brotes de dos meses obtenidos en el medio de multiplicación con mayor desarrollo. En ambas etapas, se utilizó un diseño de bloques completos al azar. Las variables evaluadas en multiplicación fueron número y longitud de brotes, y hojas por explante; y en enraizamiento, número y longitud de raíces por vitroplanta. Los medios de cultivo, MS, adicionado con diferentes concentraciones de BAP en combinación con KIN y AIA no han mostrado diferencias significativas en la respuesta a la multiplicación de explantes. En la fase de enraizamiento, el medio MS + sin reguladores de crecimiento superó a los tratamientos con IBA y ANA; esto indica que, los explantes utilizados produjeron suficientes hormonas para el enraizamiento.

Palabras claves: protocolo, micropropagación, explante, auxina, citoquinina, yemas.

Abstract

Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) is an important fruit for human consumption. It is species are vegetatively propagated by runners. At present, micropropagation is the most suitable way of commercial strawberry propagation. It is possible to produce disease-free plants through micropropagation. Plant growth regulators play an essential role in micropropagation of plants with traits of agronomic interest. The objective of this study was to develop a protocol for shoot multiplication and in vitro rooting of strawberry var. 'Aromas', using shoot buds as explants, cultivated in MS medium supplemented with different concentrations of plant growth regulators. For shoot multiplication, in vitro shoot clusters were used and cultivated in MS medium supplemented with different auxin and cytokinin concentrations. Shoots obtained in the best multiplication treatment after two months of cultivation, were used as a source of explants for in vitro rooting. The experiment was set up in a randomized complete block design. In multiplication phase number and length of shoots, and leaves per explant were measured. In rooting phase, root number per shoot and root length were recorded. MS medium supplemented with different concentration of BAP in combination with KIN and IAA showed no significant difference in terms of shoot number and shoot quality. In vitro rooting in MS medium with no growth regulators added, reached the best rooting formation, compared with the treatments with IBA and NAA. This demonstrate that explants used for in vitro rooting had enough endogenous plant growth regulators for rooting formation.

Keywords: protocol, micropropagation, explant, auxin, cytokinin, buds.

Recibido: 07/08/2023

Aceptado: 01/11/2023

Publicado: 04/11/2023

Sección: Artículo original

*Autor correspondiente: lromero@undac.edu.pe

Introducción

La fresa, es un cultivo de importancia en el mercado nacional e internacional, debido a su demanda a nivel de consumo interno y de exportación, por ser rica en vitaminas, nutrientes, color y aroma agradable; también es fuente de fenoles y flavonoides (Garzoli et al., 2020); "las antocianinas encontradas fueron malonilglucósido de pelargonidina, cisandina, rutinósido y acetilglucósido de pelargonidina" (Aaby et al., 2012) p. 88; además, activa el metabolismo, fuente de vitamina C, complejo B2 y B3, ácido fólico, fibra y minerales como el magnesio, manganeso, potasio y de fácil digestibilidad (ADEX, 2020); su rendimiento se ha incrementado por el uso de variedades rendidoras y disponer semilla vegetativa libre de virus (MINAGRI, 2008 y Naing et al., 2019), que se obtienen mediante el cultivo in vitro. La micropropagación es una herramienta importante para

la multiplicación de muchas especies vegetales, donde existen varias técnicas (Pérez-Pérez et al., 2020); entre

¹Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Filial Oxapampa, Carretera Central km 3,5, Barrio Miraflores, Oxapampa, Perú. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6196-707X>

²Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Filial Oxapampa, Carretera Central km 3,5, Barrio Miraflores, Oxapampa, Perú. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6598-3277>

³Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Filial Oxapampa, Carretera Central km 3,5, Barrio Miraflores, Oxapampa, Perú. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2663-2674>

⁴Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Filial Oxapampa, Carretera Central km 3,5, Barrio Miraflores, Oxapampa, Perú. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7392-9599>

⁵Laboratorio de Cultivo in vitro de Tejidos Vegetales, Centro Internacional de Investigación para la Sustentabilidad (CIIS) Lunahuaná, Universidad Nacional de Cañete, Lima, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3470-1601>

Como citar: Romero Rivas, L. C., Gonzales-Arteaga, J. J., Rodríguez-Layza, J., Párraga-Quintanilla, A., & Olivera-Soto, J. A. (2023). Multiplicación y enraizamiento in vitro de *Fragaria x ananassa* Duch. Var. 'Aromas'. *Revista de Investigaciones Altoandinas – Journal of High Andean Research*, 25(4), 205-212. <https://doi.org/10.18271/ria.2023.563>



ellas, el cultivo in vitro, utilizando yemas meristemáticas a partir de plantas madre convencionales previamente establecidas (Arista et al., 2019) o germinadas in vitro (Lima et al., 2018) con la finalidad de producir una gran cantidad de plantas en menor tiempo (Jiménez et al., 2020) y en un espacio reducido; en el caso de fresa *Fragaria x ananassa*, el cultivo in vitro, constituye una manera de obtener plantas vigorosas, uniformes, mayor duración en campo y número de estolones superior que en la propagación tradicional (Kessel, 2012) y libre de enfermedades (Dutta & Sen, 2019); así, se mejora la calidad y sanidad de plantas de fresa para producción en invernadero (Sabbadini et al., 2021).

Una diversidad de especies de plantas, cuando se exponen en medios de cultivo con citoquininas, genera estímulos de crecimiento y desarrollo similares a partir de yemas axilares o apicales (Moreira-Palacios et al., 2019), en medios semisólidos o líquidos (Villegas & Palma, 2019). En la multiplicación in vitro de plantas, la respuesta suele estar relacionada con la especie vegetal, genotipo, regulador de crecimiento y la interacción entre citocinina y auxina contenida en el medio de cultivo (Villavicencio-Gutiérrez et al., 2022 y Mollohuanca et al., 2021).

En la multiplicación in vitro de *Rubus glaucus* Benth resultó mejor cuando se utilizó MS + 0,75 mg l⁻¹ de AIA en comparación cuando se agregó 1,0 mg l⁻¹, y en el enraizamiento destacó en los medios SH y MS (ambos al 50%) y MS, con la adición de 1,0 mg l⁻¹ de AIB (Andrade et al., 2021). La multiplicación in vitro de fresa, en medio MS + BAP 0,5 mg l⁻¹ y 0,2 mg l⁻¹ de nanopartículas de plata, se obtuvo el mayor número de brotes (12,37/explante) y disminuyó cuando esta concentración fue superior; sin embargo, el número de raíces se incrementó al igual que la longitud y el ancho de la hoja (Tung et al., 2021); contrariamente, en fresa 'Ottoman', en MS con 0,5 mg l⁻¹ de BAP + 0,1 mg l⁻¹ de IBA, se obtuvo la mejor respuesta en número de brotes por explante y porcentaje de formación de raíces, comparado a otras concentraciones utilizadas (Dogan et al., 2021); asimismo, en MS + 0,2 mg l⁻¹ de BAP, resultó mejor frente a otras concentraciones con 6,05 raíces por explante (Howlader et al., 2014). Por otro lado, al probar el medio MS con varias concentraciones de AIB en el enraizamiento y número de raíces en fresa, se determinó que 0,2 mg l⁻¹ seguido de 0,1 mg l⁻¹ con 4,86 y 4,08 raíces por explante y que a partir de 0,5 mg l⁻¹ redujo el número a 3,40 (Howlader et al., 2016).

En medio MS con diferentes mezclas y concentraciones de NAA, BAP y GA₃, ha mostrado repuestas variables en micropropagación in vitro de fresa (Bhandari & Roy, 2015) y el uso de 1,0 mg l⁻¹ de Zeatina, produjo mayor número de brotes y raíces como

también altura de planta y largo de raíces (Neri et al., 2022). En diferentes variedades de fresa, explantes cultivados en medio 50% de MS + 0,5 mg l⁻¹ de IBA, en 'Amanecer', la longitud de raíces fue de 0,68 cm y la mínima de 0,36 cm en 'Camarosa', y en número de raíces fue de 1,13 en 'Winter Dawn' y 1,0 en 'Camarosa', 'Chandler' y 'Festival' (Dutta, 2022). Se ha encontrado que, diferentes combinaciones de reguladores de crecimiento en explantes nodales de fresa, produjeron diferencias en brotamiento, número de hojas, número y longitud de raíces (Jhajhra et al., 2018); también, se logró enraizamiento de microbrotes a los 15 días de inoculación, en medio MS y 50% MS sin reguladores de crecimiento (Karim et al., 2015). En la provincia de Oxapampa, selva alta (1700 a 2000 msnm) región Pasco, tiene condiciones favorables para el cultivo de fresa, para la diversificación de los cultivos y así mejorar la nutrición y los ingresos económicos de la población. El objetivo de la presente investigación fue establecer un protocolo de multiplicación y enraizamiento de fresa *Fragaria ananassa* Duch. Var. 'Aromas' utilizando el medio base MS con diferentes reguladores de crecimiento, a partir de yemas de corona.

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología vegetal de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, filial Oxapampa, Pasco, Perú.

Material biológico

En la multiplicación in vitro, se utilizaron coronas de vitroplántulas de fresa *Fragaria x ananassa* Duch. Var. 'Aromas' de 8 meses de edad obtenidas a partir de yemas de corona, Figura 1, provenientes de un cultivo semi tecnificado, sector La Florida, distrito de Chontabamba, provincia de Oxapampa, región Pasco; mientras que, para enraizamiento se utilizaron brotes de dos meses, que resultaron en el mejor medio de multiplicación, Figura 2, se sembraron en un cultivo semisólido MS (sales y vitaminas), reguladores de crecimiento, 30 g l⁻¹ de sacarosa y 9 g l⁻¹ de Agar, el pH 5,6, esterilizados en autoclave a 121°C y 0,1 MPa por 20 minutos.

Diseño experimental y variables

Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (Steel & Torrie, 1985), con cuatro repeticiones y tratamientos; en la fase de multiplicación los tratamientos fueron t1 (MS + BAP 0,5 mg l⁻¹ + AIA 0,6 mg l⁻¹), t2 (MS + BAP 0,5 mg l⁻¹), t3 (MS + BAP 1,0 mg l⁻¹) y t4 (MS + BAP 0,5 + KIN 0,1 mg l⁻¹); mientras que en enraizamiento, t1 (MS sin reguladores), t2 (MS + IBA 1,0 mg l⁻¹), t3 (MS + ANA 0,5 mg l⁻¹) y t4 (50%

MS + IBA 1,0 mg l⁻¹), Figura 3. Los explantes fueron incubados a una temperatura de 23°C, 60% de humedad relativa, 11,65 μmol m⁻² s⁻² de luminosidad y fotoperiodo de 16 horas luz. Las variables, en multiplicación se consideró N° de brotes por explante, longitud de brote

y N° de hojas; por otro lado, en enraizamiento, N° de raíces por vitroplanta y longitud de la raíz más larga. Las lecturas en ambas etapas fueron realizadas a los 11, 18, 24 y 32 días después de la inoculación (ddi).



Figura 1. Yemas de coronas de vitroplántulas de fresa Var. ‘Aromas’.



Figura 2. Explantes de fresa Var. ‘Aromas’ en medio de multiplicación.



Figura 3. Medios de enraizamiento (MEF), tratamientos, de fresa Var. ‘Aromas’.

Análisis estadístico

Los datos fueron transformados $\sqrt[2]{y+0.5}$ y procesados con el software estadístico R v4.0.4, con análisis de variancia (Anova) para encontrar significancia entre tratamientos, y prueba de comparación múltiple de Duncan, $\alpha = 0,05$ para determinar el mejor tratamiento.

Resultados

En la multiplicación in vitro de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. Var. ‘Aromas’), el análisis de variancia (Anova), Tabla 1, determinó que, a los 11, 18, 24 y 32 ddi no han mostrado diferencias estadísticas entre los tratamientos para las variables brotes por explante, longitud de brote y número de hojas; de igual manera,

con la prueba de comparación múltiple Duncan, $\alpha = 0,05$, Tabla 2, muestra que los tratamientos evaluados tuvieron igual efecto en las variables evaluadas.

A los 32 ddi, los brotes tuvieron una coloración verde natural igual a las hojas y la longitud de brote fue entre 1,64 a 3,17 mm; en fresa cultivar 'Charlie', a partir de meristemas a los 21 ddi, se obtuvo mejor capacidad de regeneración in vitro, la longitud de brotes fue de 2,60 cm, en el medio de cultivo constituido de 50% MS + BA 2,0 mg l⁻¹ + GA₃ 0,1 mg l⁻¹ + IBA 0,1 mg l⁻¹ + carbón 0,5 g l⁻¹ (Kaur et al., 2020); por otro lado, en cuatro variedades de fresa, a partir de estolones resultó mejor la combinación MS + 4,0 mg l⁻¹ de BA + 1,0 mg l⁻¹ de AIA con una longitud de brote de 1,62 cm (Dutta, 2022); sin embargo, en *Buddleja incana* Ruíz & Pav en MS sin reguladores, luego de 30 días de inoculación ha permitido obtener brotes con una longitud de 1,95 cm (Jiménez et al., 2020), esta diferencia en el crecimiento apical de los brotes, podría deberse a que son genotipos diferentes, la concentración de los componentes del medio; asimismo, al efecto de la combinación de los reguladores que interviene en la fisiología de los tejidos.

Con respecto a los brotes/explante, los resultados de la presente investigación fueron entre 1,08 a 1,90 y en número de hojas/explante de 1,32 a 2,41 a los 32 ddi a partir de meristemas de yemas de corona; sin embargo, en fresa Var. 'Aromas', en medio MS + 1,0 mg l⁻¹ de Zeatina se obtuvo 4,20 brotes/explante y 17,13 hojas (Neri et al., 2022); asimismo, en fresa 'Ottoman', el uso de MS más BAP (0,5 mg l⁻¹) + IBA (0,1 mg l⁻¹) obtuvieron 10,80 brotes /explante y sin diferencias significativas cuando se utilizó MS + BAP 0,5 mg l⁻¹ con 10,13 brotes/explante (Dogan et al., 2021); en accesiones, de Contulmo y Purén de *F. chiloensis*, a partir de meristemas con BAP (0,5 mg l⁻¹) en los medios de cultivo, se encontró entre 3-6 brotes por planta; pero, para número de hojas la mejor respuesta fue 9 unidades, sin reguladores de crecimiento (Quiroz et al., 2017); por otro lado, en *Fragaria x ananassa* Duch, el número máximo de brotes (5,46) y el mayor número de hojas (8,93) fueron obtenidas en MS + 1,0 mg l⁻¹ BA + 0,1 mg l⁻¹ NAA + 1,0 mg l⁻¹ de sulfato de adenina + 150 ml de agua de coco, en comparación con el tratamiento control que se obtuvo el más bajo número de hojas (3,20) por explante (Jhahhra et al., 2018). También, al evaluar el efecto de 16 combinaciones de reguladores de crecimiento en la propagación in vitro de cuatro variedades de fresa, a partir de estolones, resultó mejor en MS + BAP a 5,0 mg l⁻¹ + 1,0 mg l⁻¹ de ácido indol-3-acético (AIA) que dio el máximo número (6,75)

de brotes/explante; y la mayor longitud de brote (1,62 cm) fue en la combinación MS + 4 mg l⁻¹ de BA + 1 mg l⁻¹ de AIA (Dutta, 2022); por otra parte, a los 30 días de la siembra in vitro, la eficiencia de multiplicación de *Fragaria x ananassa* en MS suplementado con BA (0,5 mg l⁻¹) y expuesto a nanopartículas de plata (AgNPs), en el rango de 0 a 0,6, el número de brotes aumentó proporcionalmente al incrementar AgNPs, hasta 0,2 mg l⁻¹, que alcanzó el más alto valor en 12,67 brotes (Tung et al., 2021); en cambio, en explantes previamente establecidos in vitro a partir de meristemas apicales de *R. glaucus* Benth, en la multiplicación in vitro después de ocho semanas, el mejor tratamiento (10,17 brotes/explante) se observó en el medio MS suplementado con 0,75 mg l⁻¹ de BAP en comparación a MS + AIA a 1,0 mg l⁻¹ con 9,33 brotes/explante (Andrade et al., 2021); la diversidad de respuestas reportadas a los diferentes reguladores, concentración de éstos, y a otros componentes en el medio de cultivo en las características inherentes a la multiplicación in vitro de fresa, se debería a la interacción diferenciada que existe entre los genotipos y las citocininas a favor de la morfogénesis del vástago; sin embargo, en algunos de ellos responden a la combinación con auxinas pero en alta relación citocinina/auxina; asimismo, la diferencia de especies podría influir en la respuesta a los requerimientos de los componentes en el medio para cada uno (Villa & Arbeláez, 2019).

En el enraizamiento in vitro, el Anova, Tabla 1, determinó que, en longitud de raíz los tratamientos mostraron diferencias significativas a los 11 ddi, y diferencias altamente significativas a los 18, 24 y 32 ddi; pero, en número de raíces, no encontró diferencias estadísticas entre los tratamientos a los 11 ddi, sin embargo, existen diferencias altamente significativas a los 18, 24 y 32 ddi. Con la prueba de comparación múltiple de Duncan, $\alpha = 0,05$, Tabla 2, ha mostrado que los tratamientos evaluados tuvieron diferente efecto en las dos variables evaluadas. En la estimulación de la formación de raíces, en los cuatro tiempos de evaluación en número de raíces por vitroplanta y longitud de raíces, se observó que el t1 fue superior a los demás tratamientos; mientras que, en longitud de raíz, t2 y t4 se mantienen siempre iguales a t3, excepto a los 32 ddi donde se aprecia que este último se retrasó en la longitud de raíces, al ser inferior y diferente a los demás tratamientos; por otro lado, a los 24 y 32 ddi, en número de raíces por vitroplanta, t3 fue inferior al resto de tratamientos.

Tabla 1. Anova, coeficiente de variación (CV) y valores descriptivos, del efecto de cuatro medios de multiplicación y enraizamiento in vitro a partir de yemas de corona de fresa Var. 'Aromas'

Fase		Multiplicación			Enraizamiento		
ddi	Fuente de variación	gl	Brotos explante ⁻¹ (N°)	Longitud de brote (mm)	Hojas explante ⁻¹ (N°)	Raíces por vitroplanta (N°)	Longitud de raíz (mm)
11	Bloques	3	0,0122*	0,0229*	0,1270ns	0,4469ns	0,4600ns
	Tratamientos	3	0,8674ns	0,9499ns	0,4540ns	0,0699ns	0,0380*
	CV%		12,59	17,16	12,97	21,48	33,28
	Promedio		1,24	1,76	1,05	0,82	0,93
	Mínimo		0,92	1,01	0,82	0,71	0,71
	Máximo		1,73	2,56	1,39	1,55	2,27
18	Bloques	3	0,0011**	0,0102*	0,0066**	0,0104*	0,1509
	Tratamientos	3	0,6231ns	0,5470ns	0,8650ns	0,0009**	0,0008**
	CV%		8,68	12,67	11,74	15,19	28,76
	Promedio		1,41	2,17	1,46	1,06	1,61
	Mínimo		0,98	1,44	0,95	0,72	0,74
	Máximo		1,76	2,88	1,99	1,95	3,31
24	Bloques	3	0,0026**	0,0052**	0,0040**	0,0026**	0,1241ns
	Tratamientos	3	0,8413ns	0,84421ns	0,8758ns	0,0001**	0,0003**
	CV%		10,03	11,99	10,97	10,71	27,85
	Promedio		1,49	2,23	1,58	1,16	0,74
	Mínimo		0,99	1,53	1,05	0,72	1,90
	Máximo		1,87	2,95	2,10	1,76	4,05
32	Bloques	3	0,0040**	0,0038**	0,0019**	0,0003**	0,0130*
	Tratamientos	3	0,8271ns	0,9660ns	0,8764ns	0,0000**	0,0000**
	CV%		9,76	12,03	10,19	8,83	16,26
	Promedio		1,57	2,43	1,94	1,52	2,47
	Mínimo		1,08	1,64	1,32	0,75	0,79
	Máximo		1,90	3,17	2,41	2,21	5,11

Datos transformados $\sqrt[2]{y + 0,5}$; **: diferencias altamente significativas; *: diferencias significativas; ns: no significativo

Tabla 2. Comparación múltiple de Duncan, $\alpha=0,05$, del efecto de cuatro medios de multiplicación y enraizamiento in vitro a partir de yemas de corona de fresa Var. 'Aromas'

Fase		Multiplicación			Enraizamiento	
ddi	Tratamiento	Brotos explante ⁻¹ (N°)	Longitud de brote (mm)	Hojas explante ⁻¹ (N°)	Raíces por vitroplanta (N°)	Longitud de raíz (mm)
11	t1	1,19	1,72	1,01	1,06a	1,40a
	t2	1,23	1,74	1,12	0,75 b	0,78 b
	t3	1,28	1,75	0,99	0,71 b	0,72 b
	t4	1,24	1,84	1,10	0,76 b	0,80 b
18	t1	1,35	2,22	1,43	1,47a	2,86a
	t2	1,40	2,15	1,52	1,02 b	1,34 b
	t3	1,43	2,01	1,50	0,74 c	0,78 b
	t4	1,46	2,28	1,45	1,01 b	1,46 b
24	t1	1,43	2,31	1,54	1,52a	3,51a
	t2	1,51	2,23	1,59	1,16 b	1,56 b
	t3	1,51	2,14	1,54	0,79 c	0,85 b
	t4	1,50	2,24	1,63	1,15 b	1,67 b
32	t1	1,58	2,48	1,95	1,98a	4,58a
	t2	1,63	2,41	1,99	1,63 b	2,09 b
	t3	1,53	2,38	1,92	1,06 d	1,17 c
	t4	1,56	2,43	1,88	1,40 c	2,05 b

Datos transformados $\sqrt[2]{y + 0,5}$. En columnas, sin letras no hay diferencias significativas.

Los resultados de enraizamiento in vitro de fresa Var. 'Aromas', en medio MS sin reguladores de crecimiento fue superior a los tratamientos que contenía MS + IBA (1,0 mg l⁻¹); MS + ANA (0,5 mg l⁻¹) y 50% MS + IBA (1,0 mg l⁻¹); por otra parte, en esta misma variedad, no concuerda en la evaluación del efecto de diferentes reguladores de crecimiento, donde fue

superior en el medio MS + 1,0 mg l⁻¹ de Zeatina con 11,40 raíces por explante y 13,41 cm de longitud (Neri et al., 2022); asimismo, en fresa cultivar 'Charlie', para enraizamiento la mejor combinación resultó ser 50% MS + IBA 1,0 mg l⁻¹ + NAA 1,0 mg l⁻¹ con el 80% de enraizamiento con respecto a 50% MS + IBA 1,5 mg l⁻¹ + NAA 1,5 mg l⁻¹ (Kaur et al., 2020); mientras que, en

fresa-I BARI, en MS + 0,2 mg l⁻¹ de IBA, produjo un máximo de 4,86 raíces/plántula, seguido de MS + 0,1 mg l⁻¹ de IBA con 4,08 raíces/planta; y como mínimo a 0,5 mg l⁻¹ de IBA con 3,40 raíces/plántula; y la longitud máxima de raíz (3,11 cm) se produjo en MS + 1,0 mg l⁻¹ de IBA, y la más corta (1,71 cm) en MS + 1,5 mg l⁻¹ de IBA (Howlader et al., 2016); esto indicaría que en la presente investigación, el efecto de IBA en 1,0 mg l⁻¹, inhibe el enraizamiento y que los explantes utilizados produjeron suficiente hormona de enraizamiento; además, se debe tener en cuenta que, la concentración de IBA influye en las respuestas de las características de enraizamiento de los explantes utilizados.

Por otro lado, en fresa *F. chiloensis* en la accesiones Contulmo y Puren, después de seis semanas de inoculación, en medio MS sin reguladores fue superior en número de raíces/planta de 4,0 a 4,5, comparado a MS con los reguladores IBA, NAA y TDZ, y la combinación de éstos que tuvieron valores menores a 3 raíces por planta, es posible que esta especie produce suficientes reguladores endógenos para el enraizamiento (Quiroz et al., 2017), respuesta similar a fresa Var. 'Aromas' de la presente investigación, a pesar de tratarse de diferentes genotipos. En el cultivar de fresa, 'Sweet Charlie', en número de raíces, el medio MS al 50% + IBA (1,0 mg l⁻¹) + NAA (1,0 mg l⁻¹) fue superior e igual a 50% MS + IBA (1,5 mg l⁻¹) + NAA (1,5 mg l⁻¹), pero significativamente mayor en 50% MS sin regulador, con valores de 4,76, 4,25 y 3,55 y la longitud de 3,98, 3,21 y 2,54 cm, respectivamente (Kaur et al., 2020); también, se probaron diferentes concentraciones de IBA y NAA, en el enraizamiento de cultivar de fresa 'Winter Star', y en promedio estuvo entre 94,35% a 61,35% y longitud de raíz de 5,37 cm a 1,96 cm, en 50% MS suplementado con 1,5 mg l⁻¹ de IBA y en MS sin regulador de crecimiento, respectivamente (Mehta et al., 2021). Por otra parte, en fresa Var. 'Winter Dawn', 'Camarosa', 'Chandler' y 'Festival', en brotes regenerados sub cultivados en medio 50% MS suplementado con 0,5 mg l⁻¹ de IBA, produjeron 100% de enraizamiento, frente a otros tratamientos (Dutta, 2022), resultado contrario a los encontrados para la Var. 'Aromas' de la presente investigación, que se debería, a la respuesta de cada genotipo y estado ontológico de las plantas madres, componentes del medio de cultivo y condiciones micro climáticas.

Con respecto a la longitud de raíz encontrada en la presente investigación, a los 32 ddi, fue de 4,58 mm en MS sin regulador y 1,17 mm en MS + 0,5 mg l⁻¹ de ANA; por otra parte, después de 28 ddi, en fresa cv 'Ruby Gem', con brotes regenerados y enraizados con MS suplementado con 1,0 mg l⁻¹ de BAP + 0,1 mg l⁻¹ de IBA, el número de raíces por brote fue 11,67 y una longitud de raíz de 2,88 cm (Nasir & Abdulhussein, 2022); mientras que, en fresa cultivar 'Dulce Charlie',

se probaron diferentes concentraciones de BAP e IBA, para elongación y desarrollo de raíces, a los 56 ddi se encontró que las mayores longitudes fueron en MS sin regulador y MS + 1,0 mg l⁻¹ de IBA, con 5,0 y 5,4 cm, respectivamente, (Madumali et al., 2021); valores que difieren debido a los genotipos que han sido evaluados y por la respuesta a los componentes del medio, y de la concentración particular de las auxinas utilizadas en las variedades, enfatizando que en la micropropagación depende en gran parte del medio de cultivo empleado.

Conclusiones

La multiplicación de fresa *Fragaria x ananassa* Duch. Var. 'Aromas' utilizando medio base MS con BAP 0,5 mg l⁻¹+ AIA 0,6 mg l⁻¹; MS + 0,5 BAP; MS + 1,0 mg l⁻¹BAP; MS + BAP 0,5 mg l⁻¹+ KIN 0,1 mg l⁻¹ no han mostrado efectos diferenciables en la multiplicación de explantes a partir de meristemos de yemas de corona, de tal modo se pueden considerar indistintamente; y en el enraizamiento, el medio MS + sin reguladores superó a los medios MS + IBA 1,0 mg l⁻¹; MS + ANA 0,5 mg l⁻¹; 50% MS + IBA 1,0 mg l⁻¹.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto Central de Investigación de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, por el financiamiento del proyecto "Desarrollo de protocolos en la propagación in vitro de Orquídeas y cultivos de importancia económica para la provincia de Oxapampa", a través del cual se realizó el presente trabajo como parte de sus objetivos.

También expresan su agradecimiento a Ing. Marilyn C. Enciso Waller; Bach. Odalyz L. Zúñiga Salcedo e Ing Mayra Y. Monago Curi por el soporte técnico brindado.

Referencias

- Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., & Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, 132(1), 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.037>
- ADEX. (2020). *Estudio De La Internalizacion Del Sector Agroindustrial Peruano*. <https://bit.ly/454Hvir>
- Andrade, A., Gómez, L., Torres, Y., & Aguilera-Arango, G. (2021). Evaluación de medios de cultivo para el establecimiento, multiplicación y enraizamiento in vitro de mora (*Rubus glaucus* Benth.). *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences*,

Ex Agro-Ciencia, 37(2), 117–127. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS37-14EMAG40014>

- Arista, J., Leiva, S., Guerrero, J. C., & Collazos, R. (2019). Efecto de las citoquininas en la multiplicación in vitro de cuatro variedades de *Vaccinium corymbosum*, a partir de segmentos nodales. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 2(2), 55–62. <https://dx.doi.org/10.25127/ucni.v2i2.520>
- Bhandari, M., & Roy, S. K. (2015). Standardization and establishment of an efficient protocol for in vitro multiplication of Strawberry plant and its genetic stability testing. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention ISSN*, 4(8), 7–12. <https://bit.ly/3rrUZah>
- Dogan, S., Sahin, M., & Kaya, O. (2021). Researches on the Reproduction of “Ottoman Strawberry” with Tissue Culture. *Alinteri Journal of Agricultural Sciences*, 36(1), 27–32. <https://doi.org/10.47059/alinteri/v36i1/ajas21005>
- Dutta, C. & Sen, D. (2019). Vitro Propagation in Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Indian Journal of Hill Farming June, Special*, 77–81. <http://epubs.icar.org.in>
- Dutta, C. (2022). Effect of Different Plant Growth Regulators on In-vitro Regeneration in Varieties of Strawberry. *International Journal of Environment and Climate Change*, 12(11), 1178–1187. <https://doi.org/10.9734/IJECC/2022/v12i1131095>
- Garzoli, S., Cairone, F., Carradori, S., Mocan, A., Menghini, L., Paolicelli, P., Ak, G., Zengin, G., & Cesa, S. (2020). Effects of processing on polyphenolic and volatile composition and fruit quality of cley strawberries. *Antioxidants*, 9(7), 1–18. <https://doi.org/10.3390/antiox9070632>
- Howlader, P., Bose, S. K., Ali, M., Robbani, M. M., & Papry, M. (2014). In vitro callus induction and plantlets regeneration in strawberry. *Journal of the Bangladesh Society for Agricultural Science and Technology*, 11(3 y 4), 53–56.
- Howlader, P., Kumar, S., & Robbani, M. (2016). In vitro plantlets regeneration of Strawberry through runner tip culture. *Bangladesh Hort*, 2(2), 51–57. <https://bit.ly/3LC4bjd>
- Jhajhra, S., Dashora, L. K., Singh, J., Bhatnagar, P., Kumar, A., & Arya, C. K. (2018). In-vitro Propagation of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(10), 3030–3035. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.353>
- Jiménez, P., Barrera, P., Huachi, L., Vera, A., & Caicedo, C. (2020). Propagación in vitro de Quishuar (Buddleja incana Ruíz & Pav). *La Granja*, 31(1), 71–81. <https://bit.ly/3LCHcV0>
- Karim, R., Ahmed, F., Krishna Roy, U., Ara, T., Islam, R., & Hossain, M. (2015). Varietal improvement of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Dutch.) through somaclonal variation using in vitro techniques. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(4), 977–986.
- Kaur, H., Kaur, J., & Chahil, B. S. (2020). in Vitro Protocol Standardization for Growth and Rooting in Strawberry. *Journal of Krishi Vigyan*, 9(1), 193–201. <https://doi.org/10.5958/2349-4433.2020.00158.0>
- Kessel, A. (2012). Mejora Genética de la fresa (*Fragaria ananassa* Duch.), a través de métodos biotecnológicos. *Cultivos Tropicales*, 33(3), 34–41. <https://bit.ly/3EPUIGC>
- Lima, N. R., Moreno, J. A., Eras, V. H., Minchala, J., González, D., Yaguana, M., & Valarezo, C. (2018). Propagación in vitro de *Cinchona officinalis* L. a partir de semillas In. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(2), 169–178. <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2018.361>
- Madumali, H. K. C., Abeythilakarathna, P. D., & Seran, T. H. (2021). Rooting performance of in vitro microshoots of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) as influenced by plant growth regulators. *AGRIEAST: Journal of Agricultural Sciences*, 15(2), 69–73. <https://doi.org/10.4038/agrieast.v15i2.79>
- Mehta, G., Godara, A., Sharma, A., & Kumar, R. (2021). Effect of plant growth regulators on rooting behaviour of in vitro strawberry cv. Winter Star. *The Pharma Innovation Journal*, 10(4), 866–869. <http://www.thepharmajournal.com>
- MINAGRI. (2008). Estudio de la fresa en el Perú y el Mundo. In *Dirección General de Información Agraria*. <https://bit.ly/3Pp0mPu>
- Mollohuanca, C., Mayta, L., & Bardales, R. (2021). Reguladores de crecimiento (BAP y ANA) en

- la propagación in vitro de Queñoa (*Polylepis rugulosa* Bitter). *Manglar*, 18(2), 207–213. <https://doi.org/10.17268/manglar.2021.028>
- Moreira-Palacios, M. O., Cabrera, H., Armijos, R., & Cueva-Agila, A. (2019). Germinación y multiplicación in vitro de *Matricaria recutita* L.: los fenoles totales determinan su germinación. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(2), 6–11. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n2.68509>
- 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>
- Nasir, S. M., & Abdulhussein, A. M. A. (2022). Effects of AgNO₃ in combination with some plant growth regulators on micropropagation of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). *Kufa Journal For Agricultural Sciences*, 14(1), 33–40. <https://bit.ly/46lW2aA>
- Neri, J. C., Meléndez-Mori, J. B., Tejada-Alvarado, J. J., Vilca-Valqui, N. C., Huaman-Huaman, E., Oliva, M., & Goñas, M. (2022). An Optimized Protocol for Micropropagation and Acclimatization of Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) Variety 'Aroma.' *Agronomy*, 12(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040968>
- Pérez-Pérez, J. L., Fonseca-Yero, M., Bahi-Arevich, M., Silva-Pupo, J. J., & Werbrouck, S. (2020). Multiplicación in vitro de *Morus alba* L. variedad criolla en sistemas de inmersión temporal. *Pastos y Forrajes*, 43(3), 235–243. <https://bit.ly/48qBrDU>
- Quiroz, K. A., Berríos, M., Carrasco, B., Retamales, J. B., Caligari, P. D. S., & García-Gonzáles, R. (2017). Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.). *Biological Research*, 50(20), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0125-8>
- Sabbadini, S., Marcellini, M., Mezzetti, B., & Capocasa, F. (2021). Establishing micropropagation protocols for new strawberry (*Fragaria × ananassa*) breeding lines. *Acta Horticulturae*, 1309, 573–578. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1309.82>
- Steel, R., & Torrie, J. (1985). *Bioestadística: Principios y Procedimientos (2.a Ed.)*. McGraw-Hill, Bogota. <https://n9.cl/alzt4>
- Tung, H. T., Thuong, T. T., Cuong, D. M., Luan, V. Q., Hien, V. T., Hieu, T., Nam, N. B., Phuong, H. T. N., Van The Vinh, B., Khai, H. D., & Nhut, D. T. (2021). Silver nanoparticles improved explant disinfection, in vitro growth, runner formation and limited ethylene accumulation during micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 145(2), 393–403. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02015-4>
- Villa, R., & Arbeláez, L. (2019). Micropropagation in vitro de *Rosa rosa* sp. a partir de yemas axilares y respuesta calogénica. *Revista de La Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 31, 10–17. <https://doi.org/10.47499/revistaacccb.v1i31.176>
- Villavicencio-Gutiérrez, E., Arellano-Ostoa, G., & Carranza-Pérez, M. A. (2022). Estabilidad del explante en la proliferación de brotes axilares in vitro de la biznaga. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(1), 53–64. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i1.2309>
- Villegas, J., & Palma, T. (2019). Multiplicación in vitro de *Zingiber officinale* Roscoe cv. 'Gran Caimán' en Sistema de Inmersión Temporal. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 297–306. <https://bit.ly/46nwOZf>