EVALUACIÓN DE DOS MEDIOS DE CULTIVO EN LA MICROPROPAGACION DE FRESA (*Fragaria* X *ananassa* DUCH)

José Iván Jiménez Pérez[1], Estefana Alvarado Bárcenas[2]

RESUMEN

El objetivo del trabajo consistió en establecer la siembra aséptica y la regeneración de tres variedades de fresa a partir de ápices meristemáticos, empleando dos medios de cultivo, como alternativa para la reproducción masiva de plantas. Las variedades Festival, San Andrés y Camino real, son las que cuentan con mayor demanda comercial. La multiplicación in vitro de fresa indican que presentan mayor uniformidad, gran cantidad de estolones, sobrevivencia en campo, rendimiento de frutos en un 24% más que las plantas propagadas en forma convencional. El diseño experimental fue factorial. El mejor resultado de sobrevivencia y desarrollo de ápices meristemáticos fue en MS (1962) para las tres variedades, aunque en desarrollo del ápice, la variedad Camino real fue mejor en MSM.

Palabras Clave

Siembra aséptica, regeneración, ápices meristemáticos, multiplicación in vitro, sobrevivencia.

[1] Ingeniería en Industrias Alimentarias. Instituto Tecnológico de Roque Extensión Apaseo el Alto, Km 12 Carretera Apaseo el Alto-Jerécuaro, C.P: 38532, Guanajuato, Apaseo el Alto, Teléfono (413) 166 5800. ivan_graffi92@hotmail.com

[2] M.C. Estefana Alvarado Bárcenas, Instituto Tecnológico de Roque Extensión Apaseo el Alto, Km 12 Carretera Apaseo el Alto-Jerécuaro, C.P: 38532, Guanajuato, Apaseo el Alto, Teléfono (413) 166 5800. estefana3@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La fresa pertenece a la familia de las Rosáceas, el género Fragaria, crece en forma espontánea en Europa y América (INFOAGRO 2012). Este cultivo se ha extendido a nivel mundial en diversas regiones (FAO, 2009) la producción de fresa en el mundo se sitúa en cuatro millones de t en una superficie de 250,000 ha. En México, este fruto tiene una gran importancia desde el punto de vista socioeconómico (SIAP, 2009) en el país se siembran 6,282 ha, de diferentes variedades que aportan una producción de 226,657 t, con un valor de la producción de 2,102 millones de pesos (SIAP, 2009). Los principales entidades productoras son Baja California, Guanajuato, Jalisco, Estado de México y Michoacán; en esta última entidad se concentra la mayor producción nacional con una superficie de 3,252 ha y una producción de 113,193 t para el año 2012.

En los últimos dos años la producción se ha incrementado en un 38.3 %, Michoacán es el mayor productor por volumen, generación de empleos y de divisas por exportación. Las variedades más comerciales son: *a)* Festival, considerada como líder en los estados productores de Guanajuato, Michoacán y Edo. de México, con una estimación del 60% de las plantaciones; planta vigorosa de día o fotoperiodo cortó, productora en invierno con producción temprana, consistente y uniforme, es gran productora de estolones y presenta buen rendimiento, produce fresa brillante y roja de forma cónica, de textura firme con excelente sabor, produce fruta abundante y de excelente calidad, para consumo en fresco y la industria. El fruto mantiene un tamaño mediano a grande a lo larga de la producción.; *b)* Camino real, es una variedad con demanda por los productores de fresa en México, de producción tardía (mediados de noviembre en adelante), el fruto es grande con un buen sabor, altamente tolerante al daño por la lluvia. Se describe como planta de porte pequeño y erecto lo que permite grandes densidades de población por hectárea y bajo buen manejo produce buen volumen de fruta.; y *c)* San Andrés, presenta excelente sabor, requiere poco frío en vivero, resistente a enfermedades. Es una planta precoz en plantación de otoño, con una curva de producción sin picos y estable durante todo el ciclo, mantiene un buen tamaño de fruto hasta final del ciclo de producción y muy buena producción. Esta variedad es de día neutro moderado. Al inicio del cultivo es vigoroso, pero en la fase de producción es similar a Albion, debido a la alta y consistente producción de fruta, esta variedad produce pocos estolones. El fruto de San Andrés es excepcional en apariencia.

La planta de fresa se propaga en forma asexual, por lo que existe gran diseminación de virus, micoplasmas, nemátodos y hongos. El cultivo in vitro de ápices meristemáticos representa una alternativa para obtener plantas libre de hongos y bacterias en el país, la eficientización de este método de reproducción en fresa comercial mediante el cultivo in vitro, ofrece ventajas de una tasa de multiplicación superior a los métodos convencionales, alto potencial de propagación en espacio reducidos, el empleo de ápices merismáticos en etapa inicial en la multiplicación masiva como

material madre y posteriormente multiplicarse en viveros comerciales controlados (Hurtado y Merino, 1991).

Los explantes para el cultivo de tejidos de fresa pueden provenir de la corona o de los estolones, aunque es más fácil la extracción y la desinfección de los explantes de los estolones. La alta pubescencia de los tejidos y su contacto directo con el suelo inducen una alta contaminación de los explantes, especialmente cuando éstos son extraídos de plantas provenientes del campo. Existen diversas técnicas para el control de la contaminación in vitro, tales como el uso de fungicidas y antibióticos en la planta madre, el explante y/o el medio de cultivo; sin embargo, no se recomienda la adición de antibióticos al medio para controlar la contaminación bacteriana porque no son efectivos en la mayoría de los casos (Sánchez M y Salevarría J. 2004).

El objetivo de este trabajo fue evaluar dos medios de cultivo (Murashige y Skoog 1962 y el MS modificado) en la regeneración in vitro de tres variedades comerciales de fresa (Camino real, San Andrés y Festival).

Métodos y materiales

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio multifuncional del Instituto Tecnológico de Roque, ext. Apaseo el Alto, Gto., ubicado en el Km 12 Carr. Apaseo el Alto Jerécuaro. El material vegetativo consistió en la selección de estolones de variedades comerciales San Andrés, Camino Real y Festival, en el Rancho la Nueva Esperanza localizado en el Kilómetro 10 de la carretera a Dolores Hidalgo-San Diego de la Unión. Los estolones se seleccionaron y disectaron en el campo, se trasladó en una solución de Cupravit® 2 gl-1, se lavó en laboratorio eliminando raíces y foliolos abiertos. El lavado fue con agua destilada estéril y jabón biológico, se colocó en Ácido ascórbico para prevenir necrosis de los ápices disectados, en la campana de siembra se enjuagó con jabón biológico (3 min), se sumergió en hipoclorito de sodio (30%) durante (5 min), inmediatamente después se sumergió en alcohol etílico (30%) durante 5 min, , en cada paso se enjuagó con agua destilada estéril (tres veces), se disectó el ápice y se estableció en el medio de cultivo MS (1962) con las fitohormonas 1.25 mgl-1 de BA y 1 mgl-1 AIA (mejor tratamiento de trabajo previo) y Granados (MS modificado) KN 1 mgl-1. El diseño fue factorial con distribución completamente al azar con seis tratamientos y 10 repeticiones 60 unidades experimentales, la siembra aséptica se repitió tres veces. Las variables evaluadas fueron número, ancho y longitud de hoja, sobrevivencia, crecimiento y desarrollo de ápices meristemáticos, analizadas mediante estadística descriptiva.

RESULTADOS

La sobrevivencia de ápices meristemáticos de fresa en condiciones in vitro fueron cuantificados a los cinco días de su establecimiento. El mayor porcentaje de sobrevivencia se observó en las siembras establecidas en MS (1962) en las 3 variedades, teniendo solamente un 20% de sobrevivencia para Camino real en la tercer siembra (Figura 1 y 2).

Figura 1. Cultivo de fresa: a) Plantas en campo, b) Estolones, c) Disección, d) Contaminación, e) inicio de brote, f) Regeneración.

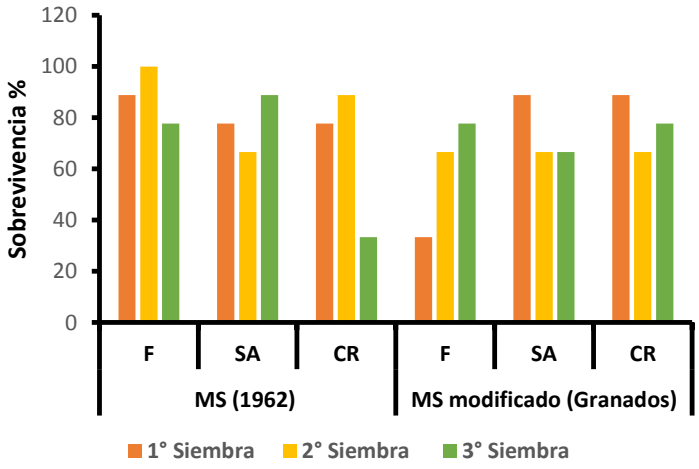

Figura 2. Sobrevivencia de ápices en dos medios de cultivo de las variedades a los 5 días.

La sobrevivencia de ápices en las tres siembras asépticas fue: en la primera siembra la variedad fue la variedad San Andrés, en la segunda siembra fue Camino real finalmente Festival se obtuvo más sobrevivencia respectiva-mente (ver Figura 3).

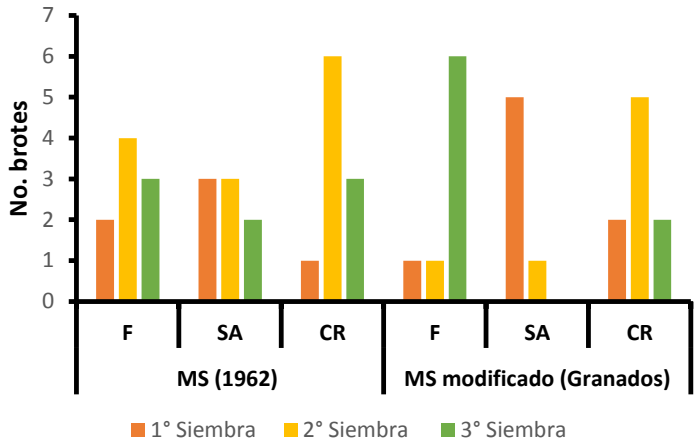

Figura 3. Número de brotes presentes en ápices meristemáticos en las tres variedades establecidas.

En el crecimiento de hojas se cuantificó a los 31 días de la siembra, se observó en el tratamiento 1 (MSM) el número promedio de hojas fue de 2.4, el mayor ancho se obtuvo en el (MSM) en el tratamiento 5 con valor 3.3 mm. Para el largo de la hoja el tratamiento 1, 2 con valor de 4 mm, del medio (MS,1962) (ver Figura 4).

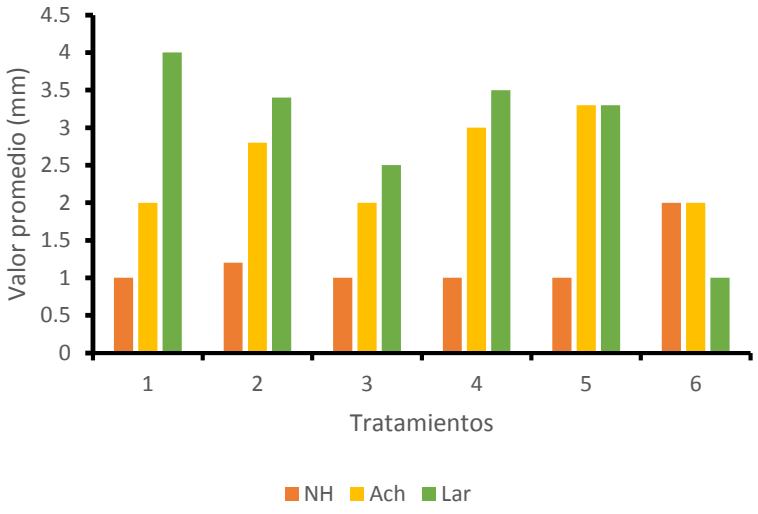

Figura 4. Número, ancho y largo de hoja en ápices de fresa en la primera siembra.

En la segunda siembra de ápices, se evaluó a los 22 días de la siembra aséptica, el número de hojas fue similar en (MS,1962 y MSM) con promedio 1.5 hojas. Para el ancho de la hoja en ambos medios se obtuvieron resultados similares de con promedio de 2.6 mm. El mejor largo se obtuvo en (MS,1962) con promedio de 4.7 mm (ver Figura 5).

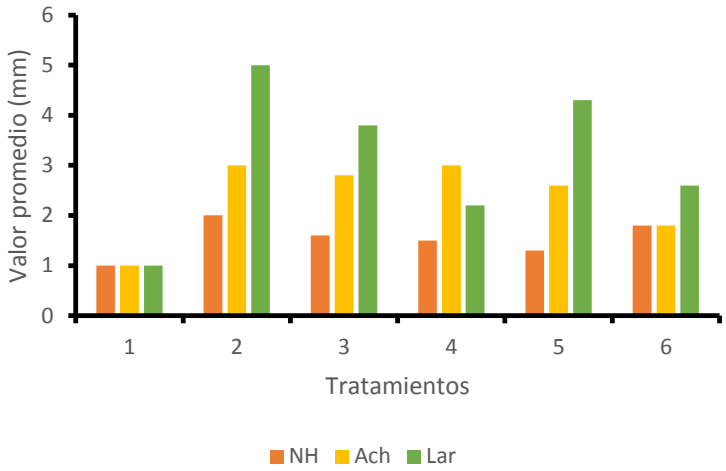

Figura 5. Número, ancho y largo de hojas, en ápices de fresa en la segunda siembra.

La tercera siembra aséptica de ápices, después de 16 días de establecimiento, los resultados continúan una respuesta similar al anterior establecimiento.

CONCLUSIONES

Los resultados del establecimiento de ápices meristemáticos de fresa, se puede mencionar que el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) se obtuvieron los mejores resultados para las tres variedades de fresa (San Ándrés, C. Real y Festival), sin embargo, en el MSM una sola variedad dio la mejor respuesta de sobrevivencia que fue la variedad Camino Real. Uribe (2010) menciona la variedad Camino Real es una variedad que presenta mayor vigor por más tiempo. La contaminación fue un serio problema en el establecimiento aséptico, debido a la condición de origen del explante, en la primera siembra el estolón se colectó en época de sequía, en la segunda siembra iniciaba la época de lluvia, y la tercera la lluvia había cesados 8 días antes de la colecta del estolón. Sánchez y Salaverría (2004), obtuvieron resultados similares, señalando que su presencia de contaminación se debe al proceso de desinfestación, tiempos y agentes empleados durante la esterilización.

REFERENCIAS

Granados B., Pérez G. B. y Mendoza A. (2003). Fase sexual de los helechos Odonstosoria schlechtendalii y Odonstosoriascandens. Rev. Biol. Trop. 51: 675-682.

Hurtado, M. D., y Merino, M.M. E. (1991). Cultivo de tejidos vegetales. Ed.Trillas. México. D. F. pp. 48-49.

Infoagro.2012. Cultivo de fresa. Consulta en: www.info agro.com/frutas/fresas_invernaderos.htm

Fonseca A. (1996).Perfil del exportador de cul tivo de fresa (Fragaria sp). Forxtor. p.16

Murashige, T. y Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with.tobacco tisuee culture. Physiol. Plant. 15:473-479. Sánchez M y Salevarría J. 2004. Control de la oxidación y contaminación en el cultivo in vitro de fresa (Fragaria x ananassa Duch). UDO Agrícola 4(1):21-25.

SIAP.2009. Consulta en: http://www.siap.gob.mx/venta na. php?idLiga=1.

Uribe A. (2010). Conservación in vitro por crecimiento mínimo de tres variedades de fresa (Fragaria x ananassa Duch). Uruapan (Michoacán). pp. 34-36.