

# Optimización de protocolo de micropropagación de variedades de *Fragaria x ananassa*, cultivadas en la zona norte de Cartago

Optimization of the micropropagation protocol for *Fragaria x ananassa* varieties cultivated in the northern region of Cartago

Alison Salas-Campos<sup>1</sup>, Jason Perez-Chavez<sup>2</sup>, Giovanni Garro-Monge<sup>3</sup>

Fecha de recepción: 30 de enero, 2025

Fecha de aprobación: 26 de mayo, 2025

Salas-Campos, A; Perez-Chavez, J; Garro-Monge, G. Optimización de protocolo de micropropagación de variedades de *Fragaria x ananassa*, cultivadas en la zona norte de Cartago. *Tecnología en Marcha*. Vol. 38, N° 4. Octubre-Diciembre, 2025. Pág. 22-33.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v38i4.7822>

1 Centro de Investigación en Biotecnología Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 [alisonsalas@estudiantec.cr](mailto:alisonsalas@estudiantec.cr)

2 Centro de Investigación en Biotecnología Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 [jasperez@itcr.ac.cr](mailto:jasperez@itcr.ac.cr)

 <https://orcid.org/0000-0002-8267-4978>

3 Centro de Investigación en Biotecnología Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 [ggarro@itcr.ac.cr](mailto:ggarro@itcr.ac.cr)

 <https://orcid.org/0000-0001-7578-1938>



## Palabras clave

Desinfección; embriogénesis somática; reguladores; explante; cultivo *in vitro*.

## Resumen

La fresa es uno de los cultivos más importantes tanto a nivel económico como nutricional. Sin embargo, enfrenta diversos desafíos debido a plagas como gusanos jobotos, cortadores y ácaros, que afectan su rendimiento y calidad. El método convencional de propagación mediante estolones presenta altos costos laborales y el riesgo de transmisión de enfermedades, lo que hace que la introducción de achenos *in vitro* sea una alternativa crucial. Por ello, se evalúan diferentes tratamientos, como la exposición a radiación, incubación a bajas temperaturas, variaciones en las condiciones ambientales y distintas dosis de hipoclorito de sodio con tiempos de exposición variados. La micropropagación *in vitro* emerge como una solución para la producción de clones libres de patógenos y la mejora de características genéticas, procesos que requieren el uso de reguladores de crecimiento y aminoácidos, cuya eficacia depende de factores como la dosis, el tipo de explante y las condiciones ambientales. Para optimizar estos parámetros, se probaron varios explantes, observándose que la hoja inferior y la yema son los más eficientes para inducir la formación de callo debido a su morfología y mayor densidad celular. En cuanto a los medios de cultivo, el Medio 3 destacó por ofrecer la mejor sobrevivencia de explantes, con un 26%, aunque no se observaron diferencias significativas entre los medios. En la etapa de proliferación, el Medio 3 mostró el mejor rendimiento al promover la regeneración y la formación de brotes, los cuales presentaron estructuras totipotentes y fibrosas.

## Keywords

Desinfection; somatic embryogenesis; regulators; explant; *in vitro* culture.

## Abstract

Strawberry is one of the most important crops both economically and nutritionally. However, it faces several challenges due to pests such as rootworms, cutworms, and mites, which affect its yield and quality. The conventional propagation method using runners involves high labor costs and the risk of disease transmission, making the *in vitro* introduction of achenes a crucial alternative. Therefore, different treatments are evaluated, such as exposure to radiation, incubation at low temperatures, variations in environmental conditions, and different sodium hypochlorite doses with varied exposure times. *In vitro* micropropagation emerges as a solution for producing pathogen-free clones and improving genetic traits, processes that require the use of growth regulators and amino acids, whose effectiveness depends on factors such as dose, explant type, and environmental conditions. To optimize these parameters, several explants were tested, with the lower leaf and the bud proving to be the most efficient for callus induction due to their morphology and higher cell density. Regarding culture media, Medium 3 stood out for offering the best explant survival rate, at 26%, although no significant differences were observed between the media. In the proliferation stage, Medium 3 showed the best performance by promoting regeneration and the formation of shoots, which exhibited totipotent and fibrous structures.

## Introducción

La fresa es uno de los cultivos más populares y valorados a nivel mundial, gracias a su alto contenido de vitamina C; así como su abundancia de antioxidantes como antocianinas, catequinas, entre otros; y minerales esenciales [1]. Estos compuestos han demostrado tener un impacto positivo en la salud, destacándose por su potencial en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, la mejora de la salud visual y su efecto contra el cáncer, la diabetes y la obesidad [2]. Esto convierte a la fresa en un producto altamente demandado tanto para consumo fresco como para la industria alimentaria y de saborizantes.

Según el último reporte registrado, en Costa Rica durante el 2014 se registraron 342 fincas dedicadas a su producción, principalmente ubicadas en la provincia de Cartago [3]. Para 2022, el área cosechada alcanzó aproximadamente 163 hectáreas, con un rendimiento promedio de 30,531.4 kg/ha y una producción total de 4,972.38 toneladas [4]. Sin embargo, este cultivo enfrenta importantes desafíos debido a su alta susceptibilidad a plagas y enfermedades que afectan la calidad y el rendimiento del fruto. Entre las plagas más comunes se encuentran los gusanos jobotos (*Phyllophaga spp.*), que dañan raíces y tallos, induciendo marchitamiento y caída de hojas; los cortadores (*Prodenia sp.* y *Spodoptera sp.*), que atacan durante las primeras etapas de crecimiento y la cosecha; y los ácaros como la araña roja (*Tetranychus urticae*) y el ácaro de la fresa (*Steneotarsonemus pallidus*), que ralentizan el desarrollo de la planta, afectando principalmente las hojas maduras [5]. Actualmente, la reproducción de la fresa se realiza principalmente a través de estolones, un método que requiere una alta inversión en mano de obra y puede servir como vector de enfermedades [5]-[6].

En este contexto, las técnicas *in vitro* se posicionan como una alternativa prometedora para la micropropagación masiva de plantas de fresa, ofreciendo soluciones innovadoras frente a los métodos tradicionales. Entre estas, destaca la embriogénesis somática indirecta, un proceso que involucra la formación inicial de un callo, el cual actúa como un precursor para el desarrollo embrionario. A partir de callo, es posible inducir tanto la proliferación como la regeneración de brotes, etapas esenciales en la obtención de plantas completas [7]. Estas técnicas no solo garantizan la producción de clones libres de patógenos, sino que también contribuyen significativamente al mejoramiento genético. Esto permite optimizar aspectos clave, como características morfológicas y productivas, para satisfacer las demandas de las variedades comerciales y mejorar la competitividad del cultivo [2]-[5].

El uso de reguladores de crecimiento y aminoácidos resulta esencial en dichos procesos, ya que su efectividad depende de la dosis empleada, el tipo de explante y las condiciones ambientales, lo que resalta la importancia de estandarizar protocolos específicos [7]-[8]. Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivo aplicar pruebas *in vitro* a distintos explantes bajo diversas concentraciones de reguladores de crecimiento, con el fin de identificar las dosis óptimas para maximizar la eficiencia en la propagación y regeneración de plantas de fresa.

## Materiales y métodos

Se realizaron los experimentos en el Centro de Investigación de Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica, ubicado en Cartago, Costa Rica durante 2023 al 2024.

### Desinfección de aquenios

Los aquenios fueron irradiados y sometidos a condiciones de humedad y seco, ambos incubados a 4 °C durante una semana [9]. Posteriormente, los aquenios se dividieron en cinco grupos de 100 unidades cada uno, y cada grupo fue expuesto a distintas dosis de irradiación: 0, 40, 80, 120 y 160 Gy. Tras la irradiación, cada grupo se subdividió en cuatro subgrupos de

25 aquenios. Los explantes fueron lavados con una solución al 20% de jabón y dos gotas de Tween 20 durante 15 minutos, seguidos de tres enjuagues con agua destilada estéril, cada uno de dos minutos. Luego, se aplicó etanol al 70% durante 60 segundos. Finalmente, se utilizaron dos concentraciones de hipoclorito de sodio al 3% y al 4%, aplicadas durante 10 y 20 minutos, respectivamente [9], [10].

### Introducción de callogénesis

Se utilizaron hojas, pecíolos y yemas como explantes de *Fragaria x ananassa*, los cuales fueron previamente introducidos en laboratorio y obtenidos de productores de la zona de Cartago. Para el experimento, se emplearon tres medios de cultivo con composiciones específicas. El Medio 1 contenía 0,5 mg/L Thidiazuron (TDZ), 1 mg/L Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y 0,5 mg/L 6-bencilaminopurina (BAP). El Medio 2 estaba compuesto por 1 mg/L TDZ y 2 mg/L 2,4-D. Finalmente, el Medio 3 incluía 0,5 mg/L TDZ, 1 mg/L 2,4-D, prolina (100 mg/L) y caseína hidrolizada (100 mg/L) [2], [7], [12]. Todos los explantes fueron incubados a  $21 \pm 2$  °C en condiciones de oscuridad.

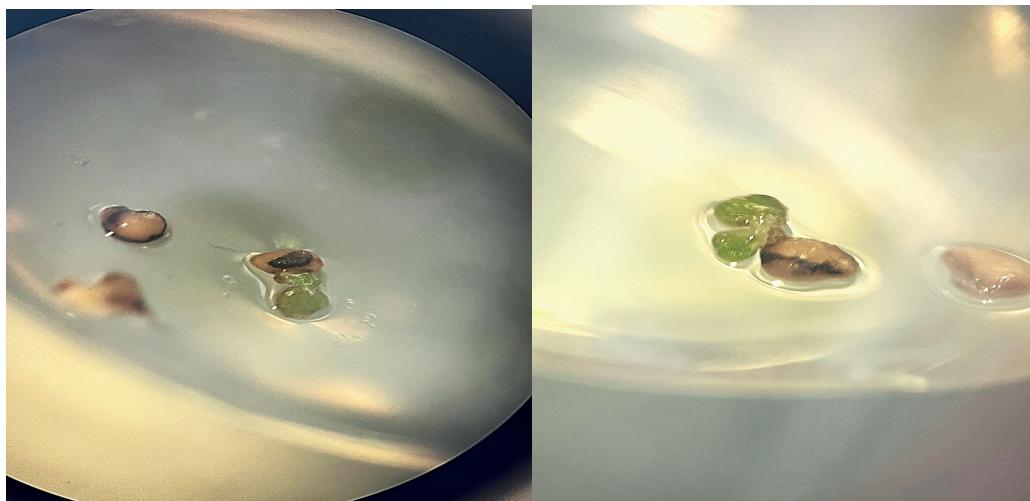
### Inducción de proliferación

Los explantes obtenidos previamente en la etapa de callogénesis fueron distribuidos entre cinco medios de proliferación, manteniendo siempre su posición original. Cada medio contenía 100 mg/L de prolina y 100 mg/L de caseína hidrolizada, combinados con diferentes concentraciones de reguladores hormonales. El Medio 1 estuvo constituido por 0,2 mg/L de 2,4-D, 1,0 mg/L de TDZ y 0,1 mg/L de Ácido Giberélico (AG $\alpha$ ) [13]. El Medio 2 se conformó por 1,5 mg/L de TDZ y 0,5 mg/L de BAP [9]. El Medio 3 incluyó 1 mg/L de TDZ y 0,2 mg/L de ácido indol-3-butírico (AIB) [14]. El Medio 4 consistió en 1,0 mg/L de AG $\alpha$ , 0,5 mg/L de BAP y 0,3 mg/L de IBA [15]. Por último, el Medio 5 actuó como control y no contenía reguladores hormonales. El material vegetal fue incubado a  $21 \pm 2$  °C en condiciones de oscuridad y se subcultivaron cada dos a tres semanas.

## Resultados y discusión

### Desinfección de aquenios

Durante el proceso de desinfección de aquenios, únicamente las semillas incubadas a 4 °C en seco y tratadas con 4% de hipoclorito de sodio por 20 minutos lograron germinar (Figura 1). El pretratamiento con altas temperaturas durante un periodo de hasta cinco semanas actúa como un estímulo vernalizante, acelerando el proceso de germinación, al inducir cambios metabólicos y estructurales que preparan al embrión para germinar bajo condiciones favorables [16]. Dicho efecto se atribuye a la ruptura de la dormancia de las semillas, mediante alteraciones en la actividad hormonal, como la reducción del ácido abscísico y el incremento de giberelinas, lo que favorece al proceso de introducción *in vitro* de aquenios [16].



**Figura 1.** Resultados de introducción de aquenios de *Fragaria x ananassa*. (A) 40 Gy a 4% por 20 minutos incubado en seco y (B) 120 Gy 4% por 20 minutos incubado en seco.

De igual forma, la aplicación de radiación como los rayos Grays en la introducción de material vegetal ofrece beneficios y limitaciones. A dosis bajas, esta radiación puede estimular el crecimiento de las plantas, mejorando la tasa de germinación, así como el desarrollo de brotes y raíces nuevas [17]. Contrario a lo anterior, en dosis superiores a 250 Gy se ha evidenciado alteraciones significativas en los tejidos meristemáticos y una reducción en la actividad de enzimas críticas como  $\alpha$ -amilasas y lipasas, esenciales para la movilización de reservas energéticas durante la germinación [17]. Por consiguiente, los tratamientos vistos en la Figura 1 resultan favorables en el proceso de germinación de aquenios.

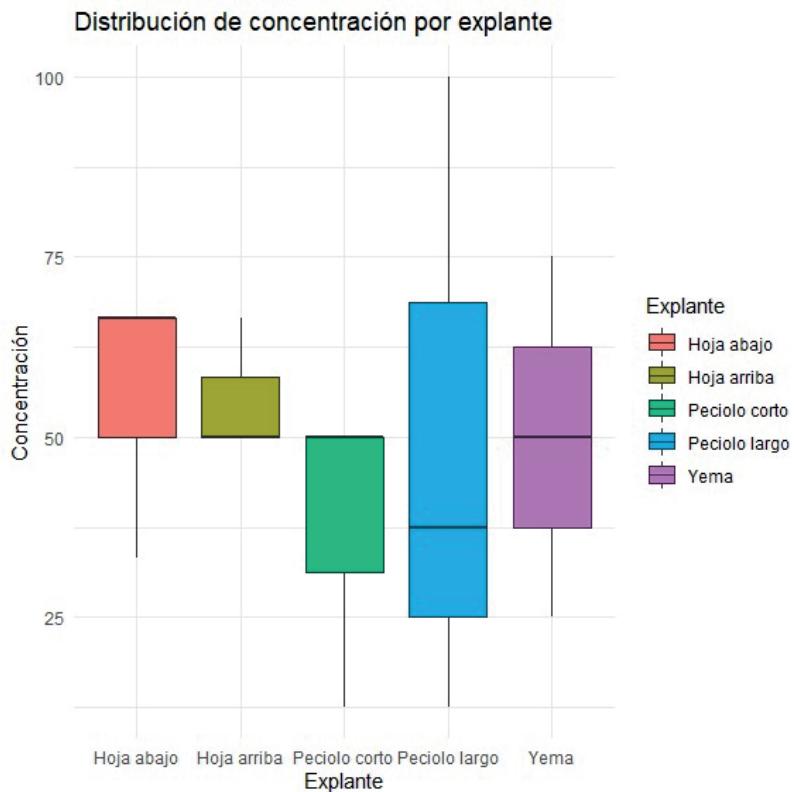
### Introducción de callogénesis

En el desarrollo de la embriogénesis somática de *Fragaria x ananassa*, los explantes hoja abajo y yema destacan por su mayor porcentaje de formación de callo en comparación con otros explantes, lo que sugiere un mejor rendimiento en los medios evaluados. Por otro lado, los explantes hoja arriba y pecíolo corto presentan una menor variabilidad en los porcentajes de formación de callo entre los diferentes medios utilizados, indicando una mayor consistencia en su respuesta. En contraste, el explante pecíolo largo muestra una marcada variabilidad entre medios, con un porcentaje alto en el Medio 1 para un 100% y significativamente menor en el Medio 2 con 12.5% y el Medio 3 con 37.5% (cuadro 1).

**Cuadro 1.** Porcentajes de formación de callo por tratamiento según la posición del explante.

Tratamiento	Medio 1	Medio 2	Medio 3
Hoja arriba	66.6	50	50
Hoja abajo	66.6	66.6	33.3
Pecíolo largo	100	12.5	37.5
Pecíolo corto	50	50	12.5
Yema	75	50	25

En la Figura 2, se observa que el explante Hoja arriba presenta una concentración media más baja en comparación con Hoja abajo, acompañada de una menor variabilidad, lo que refleja resultados más consistentes. Por otro lado, el explante Pecíolo corto muestra una concentración media intermedia con una baja variabilidad, lo cual sugiere resultados homogéneos entre los tratamientos evaluados. En contraste, Pecíolo largo exhibe un rango intercuartílico amplio y valores extremos alejados, lo que evidencia una alta variabilidad en la obtención de callo. Finalmente, el explante Yema presenta una concentración media intermedia con una variabilidad moderada, posicionándose como un tratamiento más equilibrado en términos de eficacia y consistencia.



**Figura 2.** Comparación de los resultados obtenidos de explantes de *Fragaria x ananassa* en la etapa de callogénesis, representados mediante un gráfico de cajas.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el tipo de explante empleado juega un papel crucial en la eficiencia y la calidad del proceso de callogénesis. Este es el caso de las hojas, ya que estudios previos han demostrado que láminas basales y hojas enteras son explantes altamente eficaces, alcanzando tasas de inducción de callos de hasta un 100% en un periodo de dos semanas [18], debido a la superficie de contacto con el medio de cultivo, que favorece una absorción más eficiente de nutriente, y la mayor densidad de células pluripotentes, las cuales pueden ser estimuladas en vías embriogénicas, dando como resultado la formación de callos verdes compactos, ideales para aplicaciones en regeneración y micropropagación [11], [13], [19], [20].

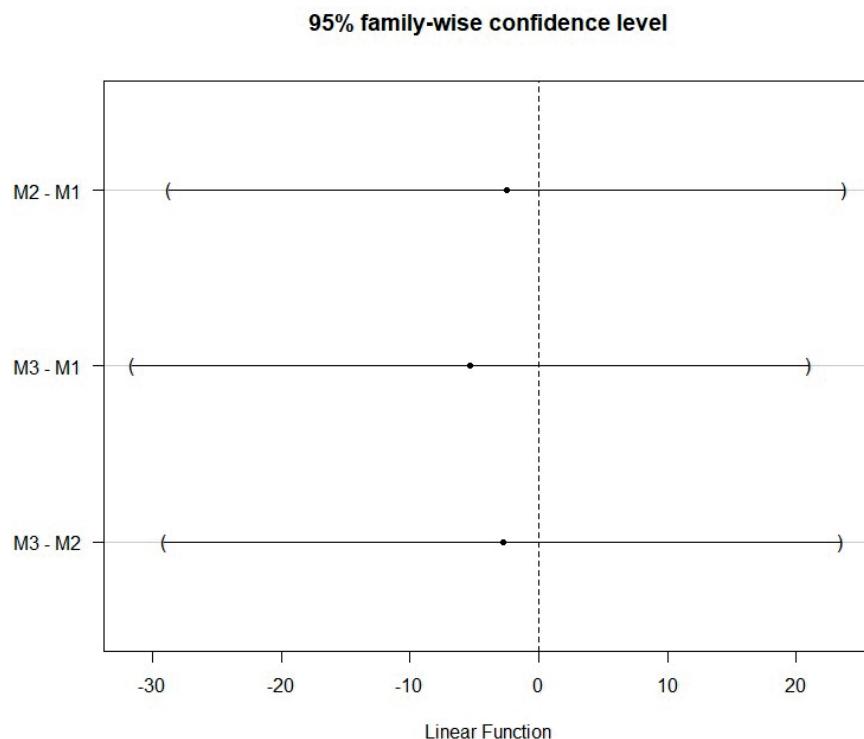
Al utilizar yema, este se ha reportado como una alternativa prometedora en la obtención de callo, en conjunto con el uso de AIB, con una respuesta de 58,5% [18]-[21]. Mientras, al usar pecíolos como explantes, se observa una respuesta más limitada en la inducción de callogénesis, lo que puede estar asociada a la estructura simple de estos y a su menor densidad de celular, lo cual impacta negativamente en su capacidad regenerativa [18]-[19].

Tras analizar los medios utilizados (cuadro 2), se observa que la formación de callo es consistente en todos ellos, alcanzando un 100%. Sin embargo, al evaluar la sobrevivencia de los explantes, el Medio 3 presenta los mejores resultados, con un 26% de sobrevivencia. En contraste, el Medio 2 muestra el mayor porcentaje de descarte de explantes, con un 82%, lo que sugiere menos efectividad para el desarrollo de las plantas en comparación con los otros medios estudiados.

**Cuadro 2.** Porcentaje de formación de callo, sobrevivencia y descarte de explantes de *Fragaria x ananassa* según el medio utilizado.

Dosis	Callo (%)	Sobrevivencia (%)	Descarte (%)
Medio 1	100	22	78
Medio 2	100	18	82
Medio 3	100	26	74

Por otro lado, los valores presentados en el cuadro 2 no evidencian diferencias significativas entre los medios evaluados, esto se confirma mediante los resultados del análisis de varianza (ANOVA), que arrojó un valor de  $p = 0.8826$  mayor al preestablecido, por lo que no se rechaza la hipótesis nula confirmando que no existen diferencias significativas entre los tratamientos analizados. Por ello, se elaboró un gráfico de intervalos de confianza (Figura 3), el cual muestra que las diferencias de medias entre los tratamientos se ubican dentro de los intervalos de confianza y próximas al valor cero.



**Figura 3.** Gráfico de intervalos de confianza que muestra la comparación entre los medios de callogénesis de *Fragaria x ananassa*.

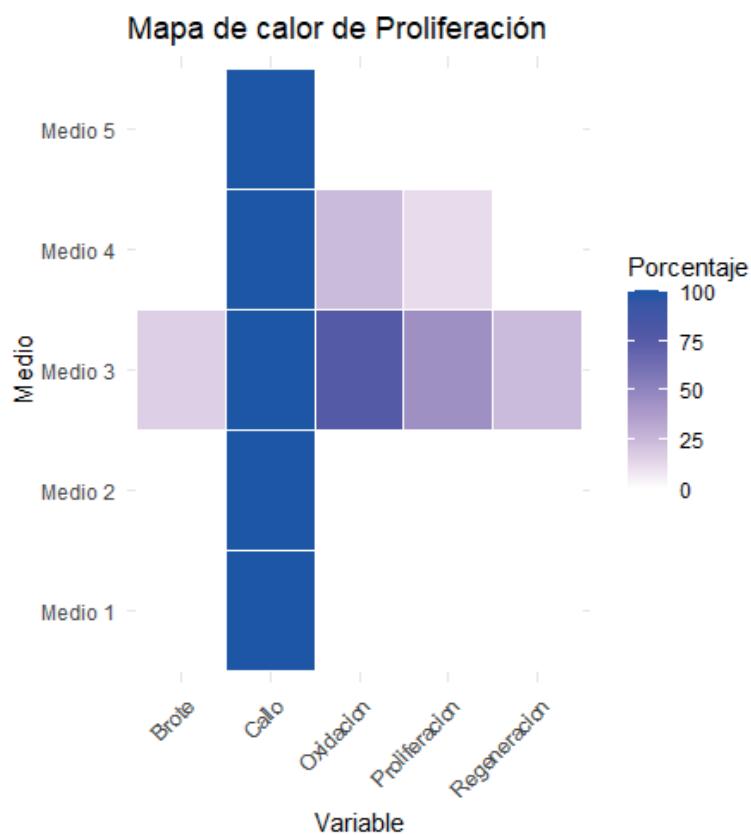
La combinación de auxinas y citoquininas es ampliamente reconocida por su capacidad para regular procesos fundamentales, como la división y diferenciación celular, durante la callogénesis [2]. En particular, las auxinas, como el 2,4-D, desempeñan un papel esencial en la iniciación de la formación de callos y embriones somáticos, mostrando resultados óptimos a concentraciones de hasta 2 mg/L, donde fomentan la proliferación celular sin inducir efectos tóxicos [22]. Las citoquininas, como el TDZ y el BAP, complementan esta acción al inducir la organogénesis y favorecer el desarrollo de estructuras como brotes y raíces. Además, la combinación de dos citoquininas, como el TDZ y el BAP, potencia su eficacia al equilibrar los procesos de división y diferenciación celular [18].

El Medio 1, que incorpora una combinación de 2,4-D, TDZ y BAP, ha demostrado ser altamente eficaz, logrando una producción de brotes de hasta el 90% y un desarrollo significativo del tamaño del callo tras cuatro semanas de cultivo [2]-[18]. Asimismo, cabe destacar que los medios que incluyen TDZ son más efectivos para el desarrollo de callos bajo condiciones de oscuridad [2]. En contraste, los Medios 2 y 3, que consisten únicamente en 2,4-D y TDZ, muestran mejores resultados en explantes de hoja y pecíolo [2]-[18].

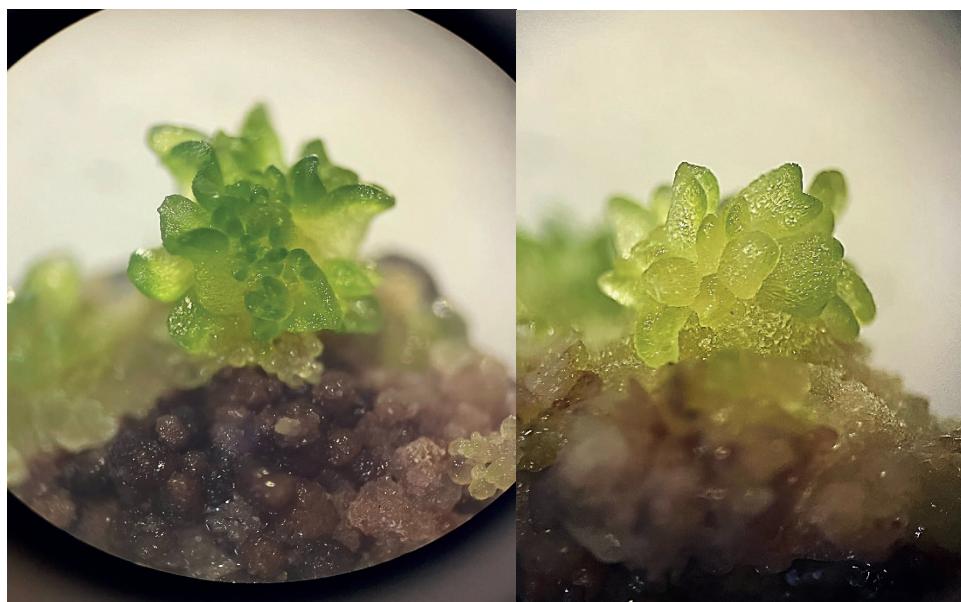
Por otro lado, el Medio 3 combina hormonas y aminoácidos, lo que se asocia con una alta tasa de formación de callos de hasta un 70%, facilitando el desarrollo de estructuras globulares y torpedo [22]. Entre los aminoácidos estudiados, la prolina destaca por su capacidad para actuar como un mecanismo de defensa y promover el desarrollo celular, siendo más efectiva que otros aminoácidos como la alanina y la glutamina. No obstante, su efecto depende de la concentración utilizada: mientras que dosis moderadas (hasta 100 mg/L) favorecen el desarrollo embrionario, dosis más altas pueden inhibir este proceso [7]-[22].

### Inducción de proliferación

Durante la etapa de proliferación (Figura 4) se obtuvo un 100% de callogénesis de *F. x ananassa* en los cinco medios utilizados. En cuanto a la oxidación, se observó únicamente en los Medios 3 y 4, con valores del 76% y 24%, respectivamente. En cuanto a la proliferación, esta dinámica se mantuvo con un 44% para el Medio 3 y un 12% para el Medio 4. No obstante, la regeneración se limitó al 24% de los explantes del Medio 3, lo que impactó significativamente en la formación de brotes, reduciendo su valor a un 16% en este mismo medio. Como se puede ver en la Figura 5, los brotes obtenidos cuentan con estructuras totipotentes, con explantes fibrosos.



**Figura 4.** Porcentaje de los resultados obtenidos en la etapa de proliferación de *Fragaria x ananassa* según las variables evaluadas (brote, callo, oxidación, proliferación y regeneración).



**Figura 5.** Formación de brote en hoja de *Fragaria x ananassa* tras 100 días de inducción de proliferación.

Con base en los resultados obtenidos, el Medio 3 destacó por su desempeño favorable en todas las variables evaluadas (Figura 4), el cual es capaz de inducir la diferenciación de brotes mediante la organogénesis (Figura 5). Se constituye de una mezcla de IBA y TDZ, mostró una

eficacia superior para la inducción de brotes y la regeneración, en concordancia con estudios previos que reportan índices más altos de proliferación al combinar estos dos reguladores en comparación con tratamientos basados en IBA y BAP [2]. Aunque el uso exclusivo de IBA no genera efectos significativos en la regeneración, su combinación con TDZ crea un equilibrio óptimo entre auxinas y citoquininas, lo que potencia la división y diferenciación celular necesarias para estos procesos [14]-[23].

Por otro lado, el Medio 4 indujo la proliferación en seis explantes (Figura 4), este medio se compone por AIB, AG3 y BAP, mostró resultados positivos, especialmente debido a la incorporación de AG3 en bajas concentraciones, lo cual favorece la formación de brotes más vigorosos y de mayor tamaño [13]-[24]. Además, el uso de BAP en dosis inferiores a 0.5 mg/L demostró ser particularmente eficiente para la proliferación celular y la formación de brotes, reforzando su papel como una citoquinina clave en protocolos de regeneración [2]-[15].

## Conclusiones

En la introducción *in vitro* de aquenios, únicamente dos explantes lograron germinar, lo que permite deducir que el pretratamiento en seco y la exposición a una solución de hipoclorito de sodio al 4% durante 20 minutos resultan ser los métodos más efectivos hasta el momento. No obstante, se recomienda ampliar el tiempo de evaluación del protocolo, así como expandir el tiempo de incubación.

Al realizar el análisis estadístico de la etapa de callogénesis, se concluyó que los explantes con mayor eficacia fueron hoja abajo, pecíolo y yema, debido a que proporcionaron datos más consistentes. Aunque los medios empleados no presentaron diferencias significativas entre sí, investigaciones reportan medios de callogénesis con IBA que muestran resultados efectivos, por lo que se recomienda incluir un cuarto medio con tal de evaluar si su incorporación mejora los resultados observados en callogénesis.

Durante la etapa de proliferación, el Medio 3 dio resultados positivos al inducir la formación de brotes. En contraste, el Medio 4 favoreció la proliferación de explantes, pero no logró inducir brotación, lo que resalta la necesidad de ajustar las concentraciones de reguladores de crecimiento, de manera que se promueva tanto la proliferación como la brotación de manera más eficiente, así como realizar una comparación más exhaustiva entre los medios para optimizar las condiciones de cultivo.

## Referencias

- [1] L. R. da Silva *et al.*, «Strawberries in a warming world: examining the ecological niche of *Fragaria ananassa* Duch – Across different climate scenarios», *Journal of Berry Research*, vol. 14, n.º 3, pp. 193-208, ene. 2024, doi: [10.3233/JBR-240012](https://doi.org/10.3233/JBR-240012).
- [2] H.-H. Chung y H.-Y. Ouyang, «Use of Thidiazuron for High-Frequency Callus Induction and Organogenesis of Wild Strawberry (*Fragaria vesca*)», *Plants*, vol. 10, n.º 1, Art. n.º 1, dic. 2020, doi: [10.3390/plants10010067](https://doi.org/10.3390/plants10010067).
- [3] Instituto Nacional de Estadística y Censos, “Cultivos agrícolas, forestales y ornamentales” en VI Censo Nacional Agropecuario, no1 . tomo 2. San José, Costa Rica: INEC, 2015.
- [4] Organización para la Alimentación y la Agricultura, “Cultivos y productos de ganadería”, FAOSTAT, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Consultado 20 dic., 2024).
- [5] E. Cadet, “Control de plagas de fresa orgánica”, Instituto Nacional de Aprendizaje, <https://alternativasapla-guicidas.cr/wp-content/uploads/2024/06/Manual-FRESA-CNEAO.pdf> (Consultado 25 nov., 2024).
- [6] R. Puscan, E. R. V. Castro, y C. E. M. Chanamé, «Combined effect of cytokinins on the *in vitro* propagation of three strawberry cultivars», *Rev. Caatinga*, vol. 37, pp. 1-10, sept., 2024. Consultado: 30 nov. 2024. [En línea]. Disponible: doi: <https://doi.org/10.1590/1983-21252024v3712180rc>.

- [7] M. Gerdakaneh, A.-A. Mozafari, A. Sioseh-Mardah, y B. Sarabi, «Effects of different amino acids on somatic embryogenesis of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.)», *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 33, n.º 5, Art. n.º 5, feb. 2011, doi: [10.1007/s11738-011-0725-9](https://doi.org/10.1007/s11738-011-0725-9).
- [8] M. Gerdakaneh y A. A. Mozaffari, «Plant Regeneration via Direct Somatic Embryogenesis in Three Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) Cultivars», *Agrotechniques in Industrial Crops*, sep. 2021, doi: [10.22126/atic.2021.6936.1022](https://doi.org/10.22126/atic.2021.6936.1022).
- [9] W. Q. Pang, S. T. Tan, M. F. Mad' Atari, I. C. K. Yoong, y S. Subramaniam, «Establishment of an efficient micropropagation protocol for Cameron Highlands White Strawberry (*Fragaria x ananassa*) using a light emitting diode (LED) system», *South African Journal of Botany*, vol. 157, pp. 189-200, jun. 2023, doi: [10.1016/j.sajb.2023.03.061](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.03.061).
- [10] A. M. Khalifa, E. Abd-ElShafy, R. Abu-Khudir, y R. M. Gaafar, «Influence of gamma radiation and phenylalanine on secondary metabolites in callus cultures of milk thistle (*Silybum marianum* L.)», *J Genet Eng Biotechnol*, vol. 20, p. 166, dic. 2022, doi: [10.1186/s43141-022-00424-2](https://doi.org/10.1186/s43141-022-00424-2).
- [11] S. Yeasmin *et al.*, «In vitro Regeneration of Strawberry Plant from Leaf Explants via Callus Induction», *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, vol. 32, n.º 1, Art. n.º 1, jun. 2022, doi: [10.3329/ptcb.v32i1.60473](https://doi.org/10.3329/ptcb.v32i1.60473).
- [12] A. Kessel Domini, «Mejora genética de la fresa (*Fragaria ananassa* Duch.), a través de métodos biotecnológicos», Accedido: 4 de diciembre de 2024. [En línea]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362012000300005&script=sci\\_arttext&tlang=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362012000300005&script=sci_arttext&tlang=en)
- [13] P. Lohasupthawee y P. Chomboon, «Mass Propagation System of Strawberry (*Fragaria x ananassa*) Microshoots by Liquid Shake Culture», *Curr. Appl. Sci. Technol.*, may 2021, doi: [10.55003/cast.2022.01.22.008](https://doi.org/10.55003/cast.2022.01.22.008).
- [14] B. C. Sarker, D. D. Archbold, R. L. Geneve, y S. T. Kester, «Rapid In Vitro Multiplication of Non-Runnning *Fragaria vesca* Genotypes from Seedling Shoot Axillary Bud Explants», *Horticulturae*, vol. 6, n.º 3, Art. n.º 3, sep. 2020, doi: [10.3390/horticulturae6030051](https://doi.org/10.3390/horticulturae6030051).
- [15] A. Thakur, A. K. Nath, y V. Sharma, «Genetic Homogeneity Analysis in Tissue Culture Raised *Fragaria ananassa* Duch. Revealed Through PCR Based Molecular Markers», *Applied Fruit Science*, vol. 66, n.º 2, Art. n.º 2, dic. 2023, doi: [10.1007/s10341-023-00995-5](https://doi.org/10.1007/s10341-023-00995-5).
- [16] Y. Zhang, «Investigation of methylome, transcriptome and phenotypic changes induced by temperature during asexual and sexual reproduction in the woodland strawberry (*Fragaria vesca*)», Doctoral thesis, 2022. Accedido: 11 de diciembre de 2024. [En línea]. Disponible en: <https://www.duo.uio.no/handle/10852/98372>
- [17] A. Atteh y A. Adeyeye, «Effect of Low Gamma Irradiation on the Germination and Morphological Characteristics of Broad Beans (*Vicia faba* L.), Mung Beans (*Vigna radiata* L.), and Peas (*Pisum sativum* L.) Seedlings», *Natural Resources*, vol. 13, n.º 5, Art. n.º 5, jun. 2022, doi: [10.4236/nr.2022.135008](https://doi.org/10.4236/nr.2022.135008).
- [18] F. Akter *et al.*, «An Efficient Agrobacterium-Mediated Genetic Transformation System for Gene Editing in Strawberry (*Fragaria x ananassa*)», *Plants*, vol. 13, n.º 5, Art. n.º 5, feb. 2024, doi: [10.3390/plants13050563](https://doi.org/10.3390/plants13050563).
- [19] E. Mukherjee y S. Gantait, «Strawberry biotechnology: A review on progress over past 10 years», *Scientia Horticulturae*, vol. 338, p. 113618, dic. 2024, doi: [10.1016/j.scienta.2024.113618](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113618).
- [20] M. Zhang, A. Wang, M. Qin, X. Qin, S. Yang, S. Su, Y. Sun, and L. Zhang, «Direct and Indirect Somatic Embryogenesis Induction in *Camellia oleifera* Abel», *Front. Plant Sci.*, vol. 12, p. 644389, 2021, doi: [10.3389/fpls.2021.644389](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.644389).
- [21] D. Mc-Caughey-Espinoza, G. Ayala-Astorga, C. García-Baldenegro, N. Buitimea-Cantúa, G. Buitimea-Cantúa, y A. Ochoa-Meza, «Germinación in vitro e inducción de callo y raíz en *Bursera laxiflora* S. Watson», *Abanico Agroforestal*, vol. 2, n.º 0, Art. n.º 0, 2020.
- [22] M. K. Biswas, R. Islam, y M. Hossain, «Somatic embryogenesis in strawberry (*Fragaria* sp.) through callus culture», *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, vol. 90, n.º 1, Art. n.º 1, jul. 2007, doi: [10.1007/s11240-007-9247-y](https://doi.org/10.1007/s11240-007-9247-y).
- [23] A. M. Husaini, J. A. Mercado, J. A. Teixeira, y J. G. Schaart, «Review of Factors Affecting Organogenesis, Somatic Embryogenesis and Agrobacterium tumefaciens Mediated Transformation of Strawberry», en *Genes, Genomes and Genomics*, A. M. Husaini y J. A. Mercado, Eds. Kita gun: Japón; Glob. Sci. Bk., 2011, cap. 1, pp. 1-11. [En línea]. Disponible: [https://www.researchgate.net/profile/Amjad-Husaini/publication/283796600\\_Genomics\\_Transgenics\\_Molecular\\_Breeding\\_and\\_Biotechnology\\_of\\_Strawberry/links/5647c50708ae54697fbbf8e6/Genomics-Transgenics-Molecular-Breeding-and-Biotechnology-of-Strawberry.pdf#page=9](https://www.researchgate.net/profile/Amjad-Husaini/publication/283796600_Genomics_Transgenics_Molecular_Breeding_and_Biotechnology_of_Strawberry/links/5647c50708ae54697fbbf8e6/Genomics-Transgenics-Molecular-Breeding-and-Biotechnology-of-Strawberry.pdf#page=9)

- [24] D. B. Shokaeva, N. V. Solovykh, y D. Skovorodnikov, "In Vitro Selection and Strawberry Plant Regeneration for Developing Resistance to *Botrytis cinerea* Pers., *Phytophthora cactorum* Leb. et Cohn (Schroet) and Salinity Stress", en *Genes, Genomes and Genomics*, A. M. Husaini y J. A. Mercado, Eds. Kita gun: Japón; Glob. Sci. Bk., 2011, cap. 13, pp. 115-125. [En línea]. Disponible: [https://www.academia.edu/24912764/In\\_Vitro\\_Selection\\_and\\_Strawberry\\_Plant\\_Regeneration\\_for\\_Developing\\_Resistance\\_to\\_Botrytis\\_cinerea\\_Pers\\_Physophthora\\_cactorum\\_Leb\\_et\\_Cohn\\_Schroet\\_and\\_Salinity\\_Stress?auto=download](https://www.academia.edu/24912764/In_Vitro_Selection_and_Strawberry_Plant_Regeneration_for_Developing_Resistance_to_Botrytis_cinerea_Pers_Physophthora_cactorum_Leb_et_Cohn_Schroet_and_Salinity_Stress?auto=download)

### Declaración sobre uso de Inteligencia Artificial (IA)

Los autores aquí firmantes declaramos que no se utilizó ninguna herramienta de IA para la conceptualización, traducción o redacción de este artículo.