

## Citocininas y pH en el cultivo *in vitro* de brotes de fresa

Yutzil Durán-Durán<sup>1</sup>

José Raymundo Enríquez del Valle<sup>1,5</sup>

Gerardo Rodríguez-Ortiz<sup>1</sup>

Alfonso Vásquez-López<sup>2</sup>

Vicente Arturo Velasco-Velasco<sup>1</sup>

1 Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO). Ex Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. CP. 71233.

2 Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR)-Unidad Oaxaca. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. CP. 71233.

Autor para correspondencia: [jose.ev@voaxaca.tecnm.mx](mailto:jose.ev@voaxaca.tecnm.mx).

### Resumen

La propagación convencional de fresa es por medio de estolones, lo cual puede tener limitaciones en la cantidad y la sanidad de las plantas. En el presente trabajo se evaluó el efecto de diferentes variantes de medios de cultivo sobre la proliferación de brotes *in vitro*, el tamaño de estos y formación de raíces. Se prepararon 27 variantes de medios de cultivo preparados con sales inorgánicas de la formulación de Murashige y Skoog (MS), diferentes concentraciones de dos citocininas, Bencilaminopurina, BAP (0, 0.5, y 1 mg L<sup>-1</sup>) y el thidiazurón, TDZ (0, 0.5 y 1 mg L<sup>-1</sup>), y diferentes pH (5, 5.5, 5.8). Se tomaron datos de número de brotes, número de hojas, formación de raíces. Los datos se sometieron a análisis de varianza y la prueba de Tukey (0.05). El mayor número de brotes (11) con hasta 57 hojas, se obtuvo en el medio de cultivo con 0.5 mg L<sup>-1</sup> TDZ, 0 mg L<sup>-1</sup> BAP y pH 5.5. Las menores cantidades de brotes (2.3) con 18 hojas, fue en MC sin TDZ, 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP y pH 5.5. En medios con solo BAP, los nuevos brotes fueron más altos, y formaron raíces adventicias. El TDZ inhibió la formación de raíces. Se concluye en que la presencia del TDZ en los MC estimuló que brotasen mayor cantidad de yemas axilares, mientras que la BAP también promovió el desarrollo de brotes axilares, pero con efecto menor al TDZ.

### Palabras clave:

*Fragaria x ananassa*, bencilaminopurina, proliferación de brotes, thidiazurón.



## Introducción

La fresa (*Fragaria x ananassa*), es una especie herbácea menor a 50 cm de altura, su reproducción es asexual mediante estolones generados de yemas axilares de las coronas. Una planta madre produce de 8 a 80 estolones por año, depende de la variedad y las condiciones ambientales (Benavides-Mendoza *et al.*, 2021; Kirschbaum, 2021) y la demanda de plantas de fresa se cubre mediante el cultivo de plantas madre que producen estolones en viveros e invernaderos.

El desarrollo de estolones está condicionado por factores ambientales, el fotoperiodo y la temperatura (Al-Madhagi, 2023; Kirschbaum, 2021; Guevara-Matus *et al.*, 2023). A nivel comercial se está implementando la producción de plantas madre mediante cultivo de tejidos vegetales, que es una técnica de aislamiento de tejidos o células vegetales, establecidas en condiciones controladas asépticas de medios de cultivo (MC) de composición definida (Pérez, 2007).

La respuesta de división celular de los cultivos *in vitro* depende de condiciones donde se establecen: a) composición química del MC como agua, sales inorgánicas, los compuestos orgánicos como carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, reguladores de crecimiento (RC) y sustancias de soporte físico; y b) las condiciones físicas de incubación que incluye la temperatura, iluminación, humedad relativa y gases atmosféricos (Enríquez-Valle, 2008; Miguel-Luna *et al.*, 2022).

La división celular y morfogénesis, son causados por el tipo de RC y su concentración en el MC (Pasternak y Steinmacher, 2024). Los RC, promueven el desarrollo vegetal influyendo en la expresión de genes y procesos fisiológicos (Miguel-Luna *et al.*, 2013). Principalmente se utilizan las auxinas, citocininas, giberelinas. Las citocininas más utilizadas son; la bencilaminopurina (BAP), kinetina (kin), 2iP y el Thidiazuron (TDZ) (Cappelletti *et al.*, 2016).

En las plantas de fresa, la técnica de cultivo de tejidos vegetales (CTV) se ha aplicado desde los años 1980's (Boxus, 1983). Los programas de propagación incluyen procedimientos para obtener plantas libres de fitopatógenos, mediante CTV. Las plantas micropropagadas se establecen en invernaderos empleándose como plantas madre para generar nuevas plantas mediante estolones (FAO, 2023), garantizando la calidad genética y sanitaria de las plantas (Capocasa *et al.*, 2019).

Gonzales-Arteaga *et al.* (2023) propagaron fresa var. Albión mediante el cultivo *in vitro* de las yemas de corona que se establecieron en MC con sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962), con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 0.6 mg L<sup>-1</sup> de ácido indolacético (AIA), 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa y el pH se ajustó a 5.6 y se agregó agar. Los cultivos se incubaron durante 32 días en condiciones con luminosidad de 14.02 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. A partir de cada yema axilar se habían formado nuevos brotes.

Neri *et al.* (2022) micropropagaron plantas de fresa var. Aroma, iniciando el cultivo *in vitro* con ápices meristemáticos, y se logró la proliferación de brotes, los cuales se establecieron a diversas variantes de MC que contenían 0.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 100 o 200 ml L<sup>-1</sup> de agua de coco, 1 o 1.5 mg L<sup>-1</sup> de TDZ, 1 o 2 mg L<sup>-1</sup> de zeatina o ácido giberélico. Los cultivos se incubaron durante cinco semanas a 25 ± 1 °C y fotoperiodo de 16 h luz e intensidad de 3000 lux. Los ápices en MC con BAP y agua de coco desarrollaron 1-2 brotes, mientras que los ápices en MC con TDZ, Zeatina o GA3, formaron 1-4 de brotes, y la mayoría de estos formaron raíces.

El pH es un factor importante en el MC, ya que tiene efecto en la disponibilidad de los nutrientes para las células y hay rangos de pH óptimos para esta disponibilidad (Pasternak y Steinmacher, 2024). Pérez-Molphe (2022) menciona que el pH generalmente se fija entre 5.5 a 5.8, y cuando sale de este rango, en algunos materiales vegetales se afecta negativamente la división celular o respuestas de morfogénesis. Sin embargo, se considera que son relativamente escasos los estudios sobre efectos de pH.

Por lo tanto, el objetivo fue evaluar la proliferación de brotes de fresa que se establecieron en MC con diferente tipo de citocinina (BAP o TDZ) y su concentración, así como el pH del medio de cultivo. Teniendo la hipótesis que la composición de tipo y concentración de citocininas y el pH del medio de cultivo tienen efecto diferente en la proliferación, el crecimiento de brotes y la formación de raíces.

## Materiales y métodos

### Obtención de brotes

En enero de 2025 se lograron cultivos *in vitro* de brotes a partir de ápices meristemáticos de estolones de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*) var. Albión. Se establecieron en recipientes de vidrio de 145 cm<sup>3</sup> que contenían 20 ml de MC esterilizado y gelificado, preparado con sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962), 1 mg L<sup>-1</sup> de tiamina-HCl, 100 mg L<sup>-1</sup> de myo-inositol, 25 g L<sup>-1</sup> de sacarosa, 0.5 mg L<sup>-1</sup> de bencilaminopurina, el pH ajustado a 5.8, antes de agregar 5.7 g L<sup>-1</sup> de agar.

Para inducir el desarrollo de brotes, los cultivos *in vitro* de ápices meristemáticos fueron incubados durante dos meses con iluminación LED 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fotoperiodos de 16 h y 8 h de oscuridad; temperatura de 15 a 29 °C. A partir de los ápices meristemáticos desarrollaron racimos de brotes múltiples, los cuales se emplearon para el experimento.

En condiciones asépticas de una campana de aire filtrado de flujo laminar horizontal, los racimos de brotes se extrajeron del cultivo *in vitro* y se colocaron en cajas Petri de vidrio esterilizadas (10 x 100 mm), con herramientas de disección estériles se separaron en brotes (tallos con hojas y yemas axilares) individuales de 1.5 cm de altura y se transfirieron cuatro brotes a cada recipiente con alguna variante de MC.

Las variantes de medio de cultivo incluyeron: 1) las sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962) en dilución al 70%, 25 g L<sup>-1</sup> sacarosa, 100 mg L<sup>-1</sup> de myo-inositol, 1 mg L<sup>-1</sup> de tiamina-HCl; 2) combinaciones de las citocininas, BAP en tres concentraciones (0, 0.5, y 1 mg L<sup>-1</sup>) y el TDZ en las concentraciones (0, 0.5 y 1 mg L<sup>-1</sup>); 3) cada una de las nueve variantes de MC, se separaron en tres volúmenes para ajustarlos a pH diferentes (5, 5.5 y 5.8) y luego se agregaron 5.7 g L<sup>-1</sup> de agar. Este fue disuelto con calor y agitación, para distribuir 20 ml de medio de cultivo por recipiente de vidrio de 145 cm<sup>3</sup> y se colocó la tapa de polipropileno.

Posteriormente fueron esterilizados durante 15 minutos en autoclave, a 1.2 kg cm<sup>-2</sup> de presión y 121 °C. Después de establecer cuatro tallos con yemas axilares en cada recipiente con MC, se colocó nuevamente la tapa, se selló con polietileno adherente y se incubaron durante ocho semanas en condiciones de iluminación, fotoperiodo y temperatura similar que en la etapa de establecimiento de ápices meristemáticos.

Transcurrido el tiempo de incubación, en el total de explantos (brotes) en cada tratamiento se evaluó la supervivencia (%), y en doce brotes-tallos con yemas por tratamiento se evaluó el desarrollo de nuevos brotes axilares, la altura del brote más grande (cm) mediante una regla graduada en cm y precisión de 0.1 cm; diámetro del tallo (mm) con vernier calibrado; número de hojas; el peso seco aéreo (tallos, hojas y raíces) se determinó mediante balanza analítica (precisión ±0.1 mg) en n= 12 unidades experimentales/tratamiento.

Las hojas se separaron del tallo y digitalizaron para determinar el área foliar (cm<sup>2</sup>) con el paquete computacional imageJ. El material vegetal que desarrolló a partir de cada explanto, se colocó en bolsa de papel he introducidas en una estufa de convección (Memmerth) a 70 °C durante 96 h, para su secado y posteriormente mediante balanza analítica se determinó el peso seco.

### Diseño experimental

El experimento se estableció de acuerdo con un diseño completamente al azar, con arreglo de tratamientos factorial de 3 x 3 x 3, por lo que resultaron 27 tratamientos. Los factores evaluados fueron: concentración de TDZ (0, 0.5, 1 mg L<sup>-1</sup>), concentración de BAP (0, 0.5, 1 mg L<sup>-1</sup>) y pH del MC (5, 5.5, 5.8) (Cuadro 1).

La unidad experimental fue un brote-tallo inicial, y en cada frasco se establecieron cuatro brotes (explantos) y se tuvieron seis frascos de cultivos *in vitro* por tratamiento. Para toma de datos se utilizaron 12 unidades experimentales por tratamiento, al seleccionar al azar dos unidades experimentales en cada uno de seis frascos.

**Cuadro 1. Los 27 tratamientos que resultaron de combinar concentraciones de citocininas y pH.**

TRAT	TDZ	BAP	pH	TRAT	TDZ	BAP	pH
1	0	0	5	15	0.5	0.5	5.8
2	0	0	5.5	16	0.5	1	5
3	0	0	5.8	17	0.5	1	5.5
4	0	0.5	5	18	0.5	1	5.8
5	0	0.5	5.5	19	1	0	5
6	0	0.5	5.8	20	1	0	5.5
7	0	1	5	21	1	0	5.8
8	0	1	5.5	22	1	0.5	5
9	0	1	5.8	23	1	0.5	5.5
10	0.5	0	5	24	1	0.5	5.8
11	0.5	0	5.5	25	1	1	5
12	0.5	0	5.8	26	1	1	5.5
13	0.5	0.5	5	27	1	1	5.8
14	0.5	0.5	5.5				

Trat= tratamiento; TDZ= tidiazuron; BAP= bencilaminopurina.

## Manejo y análisis de datos

Se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los datos mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene ( $\alpha= 0.05$ ), posteriormente, los datos se sometieron a análisis de varianza y para la prueba de Tukey (0.05) se usaron datos sin transformar. Para los análisis estadísticos se usó el paquete computacional estadístico SAS 9.4 (SAS Institute Inc., 2022).

## Resultados

Después de ocho semanas de incubación, todos (100%) los brotes-explantos en los 27 tratamientos sobrevivieron. En los brotes-explantos, establecidos en las diversas variantes de MC, ocurrió el desarrollo y proliferación de nuevos brotes, pero el nivel de respuesta fue en relación con el tipo y concentración de citocininas.

El análisis de varianza (Cuadro 2) mostró que las concentraciones de TDZ tuvieron efectos altamente significativos ( $P \leq 0.01$ ) en la mayoría de las variables evaluadas, excepto en el área foliar (AF).



**Cuadro 2. Análisis de varianza de variables morfológicas de nuevos brotes de fresa que desarrollaron en MC que variaron en pH y concentración de BAP y TDZ.**

FV	GL	DT	NB	ALT	NH	LR	PSA	PSR	AF
TDZ	2	2.7**	5.1**	4.99**	7.21**	18.56**	1.03*	1.883**	0.06ns
BAP	2	0.2ns	0.2ns	0.01ns	0.13ns	0.06*	0.02ns	0.014ns	0.01ns
pH	2	0.4*	0.1ns	0.01ns	0.07ns	0.01ns	0.05ns	0.004ns	0.06ns
TDZxBAP	4	0.1ns	0.1ns	0.03*	0.39*	0.04*	0.08ns	0.013ns	0.14ns
TDZxpH	4	0.2ns	0.1ns	0.04*	0.32*	0.01ns	0.04ns	0.004ns	0.14ns
BAPxpH	4	0.1ns	0.2*	0.03*	0.08ns	0.01ns	0.15ns	0.025ns	0.19ns
TDZxBAPxpH	8	0.1ns	0.1ns	0.01ns	0.13ns	0.01ns	0.03ns	0.025*	0.04*
Error	297	0.1	0.1	0.01	0.08	0.01			

FV= fuente de variación; GL= grados de libertad; TDZ= Thidiazuron; BAP= Bencilaminopurina; DT= diámetro del tallo; NB= número de brotes; ALT= altura del brote más grande; NH= número de hojas; LR= longitud de raíz; PSA= peso seco de la parte aérea (hojas + tallo); PSR= peso seco de raíz; AF= área foliar; \*= valores de F significativos ( $p \leq 0.05$ ); \*\*= valores de F altamente significativos ( $p \leq 0.01$ ); ns= valores de F no significativos ( $p > 0.05$ ).

Las concentraciones de BAP tuvieron efectos diferentes significativos ( $p \leq 0.05$ ) en longitud de raíz (LR) y peso seco aéreo (PSF); por su parte, los niveles del factor pH solo mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en diámetro del tallo (DT). La interacción TDZ\*BAP, tuvo efectos significativos ( $p \leq 0.05$ ) en la altura del brote más grande (ALT), número de hojas (NH) y longitud de raíz (LR). La interacción TDZ con pH, tuvo efectos significativos ( $p \leq 0.05$ ) en las variables altura del brote más grande (ALT), número de hojas (NH). La interacción BAP con pH tuvo efectos significativos ( $p \leq 0.05$ ), en número de brotes (NB), altura del brote más grande (ALT).

Los brotes de fresa cultivados en MC con  $1 \text{ mg L}^{-1}$  TDZ,  $1 \text{ mg L}^{-1}$  BAP y pH 5.5, desarrollaron nuevos brotes axilares que tuvieron 3.4 mm de diámetro. En los cultivos establecidos en MC con  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  TDZ, sin BAP y pH 5.5, desarrollaron 11 nuevos brotes axilares, cantidad 4.7 veces y significativamente (Tukey, 0.05) mayor a los 2.3 nuevos brotes axiales que desarrollaron en los cultivos establecidos en MC sin TDZ,  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP y pH 5.5; y en MC sin TDZ,  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP y pH 5.

Los nuevos brotes axilares más altos (5.7 y 5.8 cm) desarrollaron en el MC sin TDZ, 0 o  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP y pH 5.5; así como en MC sin TDZ,  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP y pH 5.8, respectivamente, que fueron significativamente (Tukey, 0.05) mayores a 1.5 cm que tuvieron los nuevos brotes axilares que desarrollaron en MC con  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  TDZ,  $1 \text{ mg L}^{-1}$  BAP y pH 5.5. Los cultivos establecidos con  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  TDZ,  $1 \text{ mg L}^{-1}$  BAP y pH 5.5, desarrollaron mayor número de hojas (85) significativamente (Tukey, 0.05) mayor a las 18.8 hojas que desarrollaron en los cultivos establecidos en MC sin TDZ,  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP y pH 5.5; y en los cultivos establecidos en MC sin TDZ,  $1 \text{ mg L}^{-1}$  BAP y pH 5. La cantidad hojas tuvo relación con el peso fresco de éstas (Cuadro 3).



**Cuadro 3. Desarrollo de brotes de fresa establecidos en MC con concentraciones diferentes de TDZ y BAP, con diferentes pH.**

T	DT	ALT	NH	T	DT	ALT	NH
1	1.6 ±1.1a-d	5.1 ±1.6a-b	44.4 ±30.4a-g	15	2.3 ±1.1a-d	1.6 ±0.5c	46.8 ±20.7a-g
2	1.5 ±1c-d	5.7 ±0.9a	42.4 ±32.5b-g	16	3.4 ±1.7a-d	1.5 ±0.4c	53.3 ±26.3a-g
3	2.2 ±0.7a-d	5 ±0.8a-b	21.8 ±11d-g	17	2.6 ±1.2a-d	1.8 ±0.6c	85.1 ±37a
4	2.1 ±1.3a-d	4.9 ±1.1a-b	20.8 ±11.7f-g	18	3.4 ±1.3a	1.8 ±0.3c	63.3 ±29.8a-f
5	1.2 ±0.8d	4.5 ±0.9a-b	18.8 ±12.6g	19	2.4 ±1.2a-d	2.1 ±0.6c	74.6 ±35a-c
6	2.1 ±0.8a-d	5.8 ±1a	21.4 ±7.4e-g	20	2.9 ±0.6a-d	1.6 ±0.8c	55.9 ±35.5a-g
7	1.5 ±0.7b-d	4.3 ±1.7b	18.8 ±8.9g	21	3.3 ±0.9ab	1.5 ±0.5c	48.6 ±23.3a-g
8	1.7 ±0.9a-d	4.7 ±1.2a-b	20.3 ± 8.4g	22	2.5 ±1.5a-d	2.4 ±0.5c	79.6 ±26.1a-b
9	2.2 ±0.6a-d	5.2 ±1.4a-b	24.5 ±13.2d-g	23	2.9 ±1.1a-d	1.8 ±0.4c	54.8 ±25.5a-g
10	2.3 ±1.9a-d	1.8 ±0.7c	47.7 ±23.1a-g	24	3 ±1.3abc	2 ±0.6c	73.3 ±41.9abc
11	2.1 ±1.8a-d	1.9 ±0.5c	57.3 ±20.5a-g	25	2.9 ±1.7a-d	2 ±0.6c	77.7 ±47.9a-b
12	1.9 ±0.7a-d	1.8 ±0.7c	64.2 ±29.7a-d	26	3.4 ±1.6a	1.8 ±0.4c	35.1 ±15.9c-g
13	3 ±1a-c	2 ±0.5c	63.4 ±33.6a-e	27	3.2 ± .4abc	2.3 ±0.8c	55 ±29.6a-g
14	2.4 ±1.1a-d	1.7 ±0.6c	71.3 ±48.8a-c				

T= tratamientos; DT= diámetro del tallo; ALT= altura del brote más grande (cm); NH= número de hojas. En cada columna, valores con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

Los tallos con yemas axilares establecidas en MC con 1 mg L<sup>-1</sup> TDZ, 0.5 mg L<sup>-1</sup> BAP y pH 5, desarrollaron tamaños más grandes en su parte aérea (tallos y hojas) 84.7 mg de peso seco de la parte aérea (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Desarrollo de brotes de fresa establecidos en MC con concentraciones diferentes de TDZ y BAP, con diferentes pH.**

T	NB	LR	PSA	PSR	T	NB	LR	PSA	PSR
1	5.8 ±4.9a-f	4 ±0.9a-b	40.3 ±18.3b-d	14.7 ±6.7a-c	15	7.8 ±4.1a-e	0d	52.4 ±24.8a-d	0d
2	4.8 ±3.6c-f	3.9 ±1a-b	39.3 ±15.3b-d	21.1 ±13.3a	16	6.7 ±2.6a-f	0d	53.7 ±26.5a-d	0d
3	2.8 ±1.8e-f	3.5 ±0.8a-c	26.8 ±11.9c-d	11.2 ±5.6b-c	17	10.2 ±5.7a-c	0d	65.3 ±26.1a-c	0d
4	2.6 ±1.6e-f	3.1 ±0.9b-c	26.5 ±13.6c-d	1.6 ±1.1a-c	18	7 ±3.1a-f	0d	67.2 ±31.5a-c	0d
5	2.3 ±2f	3.1 ±0.8b-c	21.9 ±6.4d	7.8 ±3c-d	19	7.9 ±3.5a-e	0d	61.3 ±31.4a-d	0d
6	2.8 ±1.2e-f	4.1 ±0.9a	28 ±8.4c-d	13 ±8.1a-c	20	7.2 ±2.8a-f	0d	58.1 ±29.4a-d	0d
7	2.3 ±1.5f	3.2 ±1.6a-c	34 ±25b-d	12.7 ±7.3bc	21	5.8 ±2.3b-f	0d	46.4 ±24.6a-d	0d
8	2.8 ±1.5e-f	2.6 ±1.2c	35.1 ±18.1b-d	19.3 ±14.7ab	22	10.3 ±4ab	0d	84.7 ±29.9a	0d
9	3.5 ± .9d-f	3.1 ±1.4b-c	35.8 ±15.9b-d	17.2 ±8a-b	23	7 ±3.4a-f	0d	56.7 ±32.3a-d	0d
10	8.6 ±4.9a-d	0.1 ± 0.4d	56.2 ±39.5a-d	0.1 ± 0.3d	24	6.7 ±2.8a-f	0d	57.2 ±27.7a-d	0d
11	11.3 ±7.6a	0d	44.6 ±23.7a-d	0d	25	6.8 ±2.8a-f	0d	71.8 ±53.3ab	0d

T	NB	LR	PSA	PSR	T	NB	LR	PSA	PSR
12	8 ±6.4a-e	0d	50.7 ±43.7a-d	0d	26	5.3 ±2.7b-f	0d	50.9 ±16.5a-d	0d
13	7.6 ±2a-f	0d	58.1±22.5a-d	0d	27	6.1 ±3.5a-f	0d	71.8 ±34.5ab	0d
14	6.9 ±3a-f	0d	45.3±14.4a-d	0d					

T= tratamientos; NB= número de brotes; LR= longitud de raíz (cm); PSA= peso seco parte aérea (hojas + tallo) (mg); PSR= peso seco de raíz (mg). En cada columna, valores con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

La menor cantidad (2.8 a 4.5) de brotes desarrollaron en los MC sin TDZ con 0 a 1 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Al incrementar la concentración de TDZ con alguna concentración de BAP se estimuló el desarrollo de mayor cantidad de brotes a partir de yemas axilares (Figura 1). Por lo tanto, se puede deducir que la presencia del TDZ en los MC estimuló que brotasen mayor cantidad de yemas axilares, mientras que la BAP también promovió el desarrollo de brotes axilares, pero con efecto menor al TDZ (Figura 2).

Figura 1. Desarrollo de brotes axilares de fresa en función de la concentración de TDZ y BAP en el medio de cultivo.

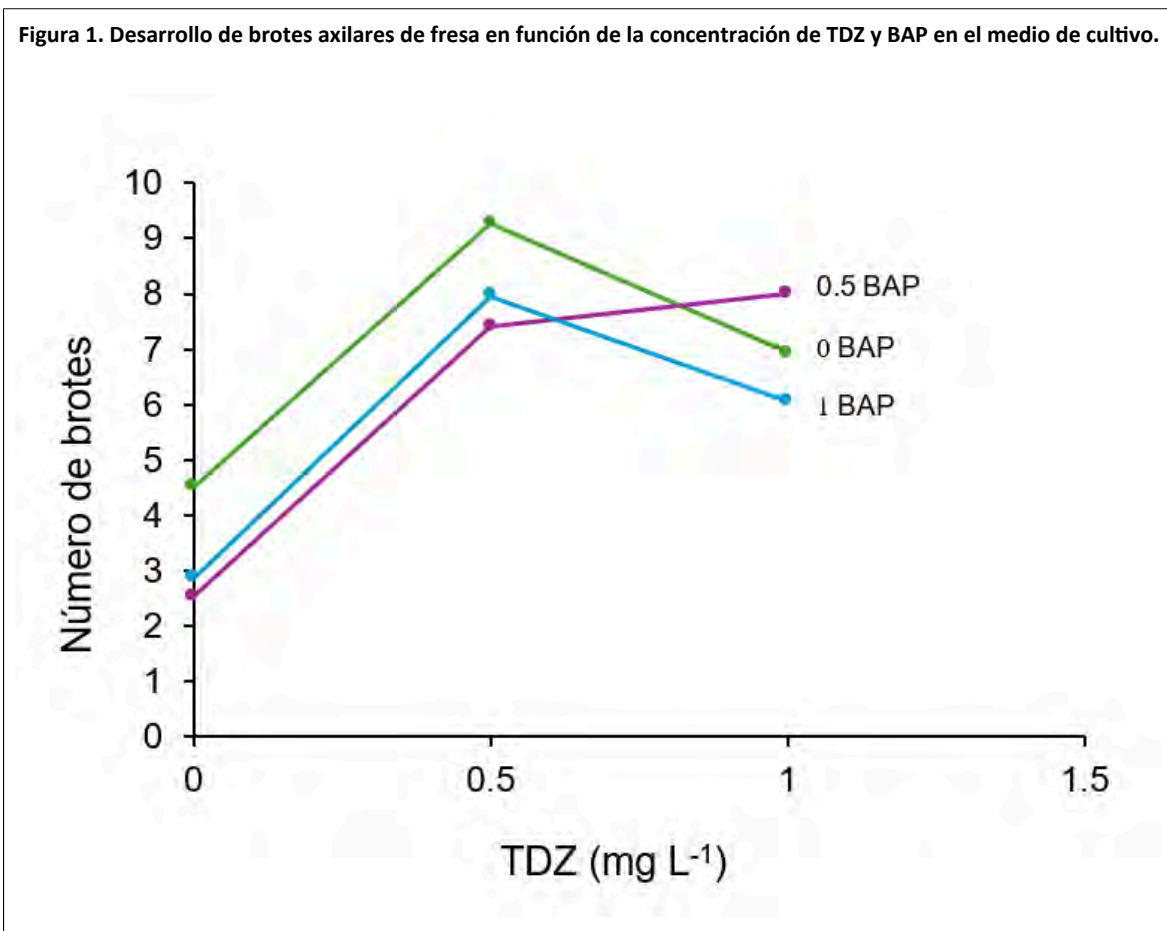
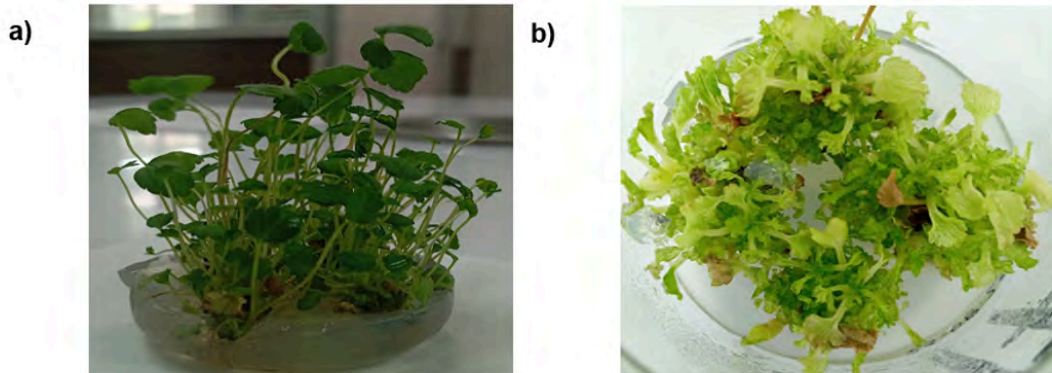


Figura 2. Cultivos *in vitro* de fresa: a) brotes que desarrollaron en medio de cultivo con BAP y sin TDZ; b) brotes que desarrollaron en medio de cultivo con BAP y TDZ.



## Discusión

El TDZ y el BAP promovieron la brotación múltiple en las yemas axilares de fresa, pero la BAP tuvo un efecto menor al TDZ en la estimulación de la brotación de yemas axilares, en menor cantidad. El pH solo influyó en el diámetro del tallo. El TDZ y el BAP están clasificados en el grupo de los RC de citocininas, que en términos generales tienen efectos biológicos similares, de estimular la división celular y formación de brotes múltiples, pero en grado diferente, ya que el TDZ estimuló brotes en mayor cantidad de yemas axilares en comparación a la BAP.

Así también el TDZ inhibió la formación de raíces adventicias, en grado mayor que la BAP, pues los tallos establecidos en MC con TDZ no formaron raíces, mientras que en MC con BAP los tallos sí formaron raíces. Cuazil-Flores y Núñez-Palenius (2017) en la propagación *in vitro* de *Fragaria x ananassa*, los brotes establecidos en MC con TDZ formaron mayor número de hojas, pero también formaron raíces.

Pillco-Tancara *et al.* (2017), al propagar dos variedades de fresa, iniciando el cultivo con tejidos de hoja, y al establecerlos en MC con 9.08  $\mu\text{M}$  de TDZ combinado con 0.98  $\mu\text{M}$  de AIB promovió la formación de brotes (5) en cultivos de callo. El TDZ es una citocinina altamente eficaz en la micropropagación de fresa, ya que Wang *et al.* (2025) mencionan que incrementa significativamente la regeneración y multiplicación de brotes, ya que mejoró la vía de señalización de citoquininas, que es crucial para la división celular e iniciación de los brotes.

De acuerdo con Ruíz-Anchondo *et al.* (2018) el uso de TDZ en protocolos de propagación de frutillas ha demostrado que TDZ podría estar asociada a su capacidad de modificar la señalización endógena de citocininas y estimular la activación de meristemos latentes, por lo que protocolos de micropropagación de frutillas representa una alternativa eficiente para la producción de plantas libres de patógenos, aunque la respuesta puede diferir según la variedad y las condiciones de cultivo.

En el presente trabajo se observó que el TDZ promovió un mayor número de brotes axilares en comparación con la BAP, confirmando su efecto superior en la multiplicación *in vitro*. De manera similar, Venegas-Tarancón *et al.* (2024) en el cultivar Camino Real de *Fragaria x ananassa* se reportó que el extracto de hojas de frutilla, solo o en combinación con BAP, mejoró la respuesta de los explantos al controlar la oxidación y la contaminación.

Los resultados obtenidos en el trabajo de Adak *et al.* (2009), donde el TDZ promovió un mayor número de brotes axilares en comparación con la BAP, coinciden con lo reportado en el cultivar 'Camarosa', en el cual el TDZ solo o en combinación con AIA incrementó significativamente el

índice de multiplicación de brotes (28.46 por explanto). Cuazil-Flores y Núñez-Palenius (2017), señalaron que el ajuste del pH en sistemas de inmersión temporal favorece la robustez de plántulas de fresa, mientras que, en el presente trabajo, los diferentes valores de pH del medio de cultivo influyeron en el grosor de tallo, sin influir significativamente en otras variables.

## Conclusiones

Tallos con yemas axilares establecidos en MC con citocininas TDZ y BAP, se estimuló el desarrollo de brotes axilares, pero el TDZ tuvo efecto más notable que la BAP. Además de lograr el desarrollo de brotes múltiples en cada tallo con yemas axilares-explanto, en MC con BAP en los tallos ocurrió la formación de raíces adventicias, mientras que en los MC con TDZ se inhibió completamente esta respuesta. El pH del MC, en el rango 5 a 5.8, no tuvieron diferencias notables en las características evaluadas. Los tallos con yemas axilares establecidos en el MC sin citocininas desarrollaron la cantidad menor de brotes, pero fueron los más altos y formaron raíces adventicias.

## Bibliografía

- 1 Adak, N.; Kaynak, L.; Pekmezci, M. and Gubbuk, H. 2009. Effect of thidiazuron and indole-3-acetic acid on *in vitro* shoot proliferation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Acta Horticulturae*. 829:323-328. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.829.46>.
- 2 Al-Madhagi, A. 2023. *In vitro* propagation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) using cytokinins. *Bioagro*. 37(1):123-134.
- 3 Benavides-Mendoza, A.; González-Moscoco, M.; Ojeda-Barrios, D. L. y Fuentes-Lara, L. O. 2021. Bioestimulación y toxicidad: Nanotecnología para la promoción y protección del crecimiento de las plantas. Capítulo 14. 245-268 pp. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119745884.ch14>.
- 4 Boxus, P. 1983. Propagation of strawberry plants by *in vitro* culture. *Acta Horticulturae*. 131:35-44.
- 5 Cappelletti, R.; Sabbadini, S. and Mezzetti, B. 2016. The use of TDZ for the efficient *in vitro* regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*. 207(1):117-124. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.016>.
- 6 Capocasa, F.; Balducci, F. and Marcellini, M. 2019. Comparación del comportamiento en vivero, el rendimiento de las plantas en campo y la calidad del fruto de plantas madre de fresa propagadas *in vitro* e in vivo. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 136:65-74. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-1492-8>.
- 7 Cuazitl-Flores, M. F. y Núñez-Palenius, H. G. 2017. Establecimiento y micropropagación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en un sistema de inmersión temporal (SIT). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8(4):799-812.
- 8 Enríquez-Valle, J. R. 2008. La propagación y crecimiento de agaves. Primera Edición. Fundación produce Oaxaca e Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. 48 p.
- 9 FAO. 2023. Guía práctica para la aplicación de las normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura: conservación mediante cultivo *in vitro*. Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura. Roma. 120 p. <https://doi.org/10.4060/cc0025es>.
- 10 Gonzales-Arteaga, J. J.; Rodríguez-Layza, J. Romero-Rivas, L. C.; Párraga-Quintanilla, A. and Olivera-Soto, J. A. 2023. Role of BA and IAA on regeneration and shoot proliferation *in vitro* of three strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) varieties. *Agroindustrial Science*. 13(2):93-102. <http://doi.org/10.17268/agroind.sci.2023.02.05>.

- 11 Guevara-Matus, K.; Loría-Quirós, C. L. y Granados-Montero, M. 2023. Efecto de la vernalización sobre la producción de estolones de fresa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 14(1):129-137.
- 12 Kirschbaum, D. S. 2021. Características botánicas, fisiología y tipos de variedades de fresas. Cultivo, poscosecha, procesamiento y comercio de berries. *Horticultura y Poscosecha*. 103-116 pp. ISBN: 978-84-16909-47-6.
- 13 Miguel-Luna, M. E.; Enríquez-Valle, J. R.; Velasco-Velasco, V. A.; Villegas-Aparicio, Y.; Carrillo-Rodríguez, J. C. y Rodríguez-Ortiz, G. 2013. Composición del medio de cultivo y la incubación para enraizar brotes de agave. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(14):1151-1159.
- 14 Miguel-Luna, M. E.; Enríquez-Valle, J. R.; Santos-Romero, R. B. y Rodríguez-Ortiz, G. 2022. La morfogénesis en la propagación asexual, con énfasis en cultivo de tejidos vegetales. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*. 9(1):137-147.
- 15 Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiología Plantarum*. 15(3):473-479. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- 16 Neri, J.; Meléndez-Mori, R.; Tejada-Alvarado, K.; Vilca-Valqui, M.; Huamán-Huamán, J.; Oliva, C. y Goñas, J. 2022. An optimized protocol for micropropagation and acclimatization of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) Variety 'Aroma'. *Agronomy*. 12(4):968. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040968>.
- 17 Pasternak, T. P. and Steinmacher, D. 2024. Plant growth regulation in cell and tissue culture *in vitro*. *Plants*. 13(2):327-357. <https://doi.org/10.3390/plants13020327>.
- 18 Pérez-Molphe, B. E. 2007. Cultivo de tejidos vegetales. Universidad Autónoma de Aguascalientes. 21-63 pp. ISBN 968-625-962-7.
- 19 Pillco-Tancara, H. C. y Quezada-Portugal, J. Á. N. 2017. Efecto del tidiazurón y ácido indolbutírico en la propagación *in vitro* de dos variedades de frutilla (Oso Grande y Sweet Charlie) a partir de secciones foliares. *Journal of the Selva Andina Research Society*. 8(1):53-64. <http://www.scielo.org/bo/pdf/jsars/v8n1/v8n1-a05.pdf>.
- 20 Romero-Rivas, L. C.; Gonzales-Arteaga, J. J.; Rodríguez-Layza, J.; Párraga-Quintanilla, A. y 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>.
- 21 Ruíz-Anchondo, T.; Martínez, J. A.; Carrillo-Castillo, T.; Parra-Quezada, R. Á.; Ojeda Barrios, D. L. y Hernández-Rodríguez, A. 2018. Establecimiento *in vitro* de dos cultivares liberados de frutillas: fresa y frambuesa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9(4):799-812.
- 22 SAS Institute Inc. 2022. SAS® 9.4 software [Computer software]. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- 23 VenegasTarancón, R.; Rodríguez, J.; Rojas, J. y Díaz, C. 2024. Uso de fitohormonas sintéticas y extractos vegetales en el cultivo *in vitro* de fresa (*Fragaria x ananassa*). *Acta Agronómica*. 73(2):143-152. <https://doi.org/10.15446/acagro.v73n2.110143>.
- 24 Wang, F.; Li, Y.; Pang, Y.; Hu, J.; Kang, X. and Qian, C. 2025. Thidiazuron enhances strawberry shoot multiplication by regulating hormone signal transduction pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. 26(9):4060. <https://doi.org/10.3390/ijms26094060>.



## Citocininas y pH en el cultivo *in vitro* de brotes de fresa

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 February 2026
Date accepted: 01 March 2026
Publication date: 01 May 2026
Publication date: May-Jun 2026
Volume: 17
Issue: 3
Electronic Location Identifier: e4322
DOI: 10.29312/remexca.v17i3.4322

### Categories

Subject: Artículo

### Palabras clave:

**Palabras clave:**

*Fragaria x ananassa*

bencilaminopurina

proliferación de brotes

thidiazurón

### Counts

Figures: 2

Tables: 4

Equations: 0

References: 24