

Producción *in vitro* de plantas de frutilla

Autores: Javier Chilian P., Uberlinda Luengo U., INIA Quilamapu

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS – INFORMATIVO INIA RAIHUÉN N°83 – AÑO 2025

La frutilla desempeña un papel clave en la agricultura y la economía de la Región del Maule, tanto por la superficie destinada a su cultivo como por su importancia dentro del sistema productivo local. En este escenario, la aparición del nemátodo foliar *Aphelenchoides fragariae* –capaz de provocar pérdidas de hasta 60 % en la producción– ha generado gran preocupación entre los productores, quienes dependen en gran medida de este cultivo como fuente principal de ingresos.

Para asegurar huertos sanos y productivos, es fundamental que los agricultores inicien el cultivo con plantas sanas, de calidad genética y fitosanitaria, con especial atención a que estén libres de nemátodos (Figura 1).



Figura 1. Planta de frutilla *Fragaria x ananassa* Duch. cv. 'Albion' regenerada *in vitro*.

Esta práctica, complementada con la rotación de cultivos y/o el manejo adecuado del suelo, contribuye a disminuir la presión de inóculo y a mejorar el estado sanitario del sistema productivo.

En respuesta a esta problemática, y en el marco del proyecto “Generación de Banco de Germoplasma para la obtención de plantas de calidad”, financiado por el Gobierno del Maule, el Instituto de Investigaciones Agropecuarias, a través de su Centro Regional INIA Raihuén, ha desarrollado una estrategia de multiplicación *in vitro* de plantas de frutilla. Esta iniciativa busca proporcionar material vegetal sano y de alta calidad, fortaleciendo así la sustentabilidad del cultivo en la Región de Maule.

Cultivo *in vitro*

El cultivo *in vitro* de frutilla es una técnica de propagación que permite multiplicar plantas en condiciones controladas y estériles, utilizando pequeños fragmentos de tejido vegetal cultivados en un medio nutritivo, dentro de frascos de vidrio. Esta metodología ofrece importantes ventajas frente a los métodos tradicionales, entre ellas, la posibilidad de producir un alto número de plantas en un corto período de tiempo, así como obtener material vegetal sano, libre de nemátodos y otras enfermedades.

Una de las aplicaciones más comunes del cultivo *in vitro* es la micropropagación o propagación clonal (Figura 2), mediante la cual, a partir de tejidos de una planta madre y utilizando medios de cultivo específicos, se genera una descendencia uniforme compuesta por plantas genéticamente idénticas, conocidas como clones. Los tejidos más frecuentemente empleados en este proceso son las yemas vegetativas, por su alta capacidad de regeneración y estabilidad genética.

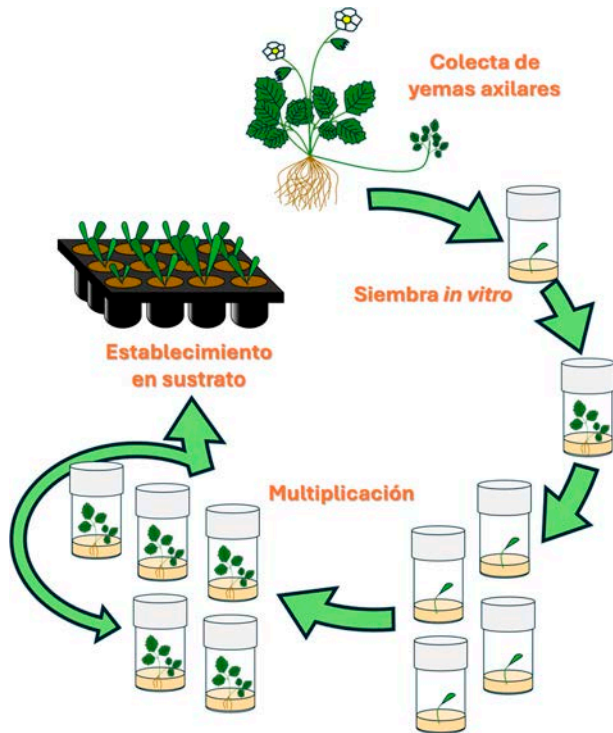


Figura 2. Esquema de micropropagación de plantas de frutilla.

¿Cómo realizar el cultivo *in vitro* de frutilla?

A continuación, se presenta el protocolo utilizado para la micropropagación de frutilla *Fragaria x ananassa* Duch. cv. 'Albion'. Es importante considerar que cada variedad tiene sus propios requerimientos y, por lo tanto, diferentes variedades pueden necesitar una combinación de hormonas y condiciones ambientales específicas.

1. Preparación de plantas madre

Las plantas madre debidamente identificadas se deben mantener en invernadero (Figura 3A), bajo condiciones de nutrición y sanidad controladas para asegurar su estado fitosanitario y tener trazabilidad del material utilizado.

2. Obtención del explante

El tejido vegetal utilizado en la multiplicación *in vitro* es la yema axilar de los estolones. Para ello, se cortan los segmentos nodales (aproximadamente 4 cm de largo) de los estolones, en donde existe una yema en buen estado (Figura 3B).

Estos se lavan con abundante agua corriente, para reducir la contaminación superficial, y luego se colocan en un recipiente con una solución fungicida-bactericida, donde se mantienen durante 15 minutos en agitación constante.



Figura 3. Plantas de frutilla en invernadero (3A) y brote de estolón seleccionado para su introducción *in vitro* (3B).

3. Esterilización

Para asegurar un exitoso establecimiento *in vitro*, además de la desinfección superficial, es necesario someter el tejido vegetal a un proceso de esterilización para eliminar cualquier microorganismo contaminante. Luego, en una cámara de flujo laminar, se sumergen durante un minuto en una solución de etanol diluido al 70 % (v/v) y a continuación se colocan en una solución de cloro comercial al 20 % (v/v) más unas gotas de Tween-20, por 15 minutos. Finalmente, se realizan tres enjuagues con agua destilada estéril. Existen diferentes estrategias de desinfección, las que se evalúan en función de los grados y tipos de infección observados durante el cultivo.

4. Establecimiento *in vitro*

Las yemas desinfectadas se siembran individualmente en un medio de cultivo que contiene los nutrientes necesarios [medio Murashige y Skoog (MS)] y hormonas para que se inicie el proceso de regeneración de los nuevos tejidos [Bencilaminopurina (BAP) 0,2 mg/l y ácido indolbutírico (IBA) 0,1 mg/l].

El medio de cultivo, al igual que todos los materiales que ingresan a la cámara de flujo laminar, previamente esterilizados en autoclave a 121 °C y 1,2 kg/cm² de presión, por 20 minutos. Después de la siembra, los frascos sellados son trasladados a la cámara de crecimiento a condiciones de 25 °C, 60 % de humedad relativa y fotoperiodo de 16 horas luz (Figura 3B).

Durante la primera semana después de la siembra, se evalúan los frascos de cultivo para identificar la presencia de contaminación causada por hongos y/o bacterias, eliminando frascos contaminados.

Las yemas permanecen en esta condición de cultivo hasta los 28 días (Figura 4A).

5. Multiplicación o micropropagación *in vitro*

La micropropagación se realiza después de 28 días, cuando las yemas establecidas desarrollan nuevos brotes (Figura 4B).

En la cámara de flujo laminar, los brotes son separados con bisturí y sembrados nuevamente (subcultivos) en un medio fresco y colocados en cámara de crecimiento con las mismas condiciones indicadas anteriormente (Figura 4C).

De esta forma, se aumenta el número de plantas exponencialmente en cada subcultivo. Para el protocolo aquí descrito, este proceso se repite cuatro veces, por lo que a partir de cada yema inicial es posible regenerar 64 nuevos brotes.

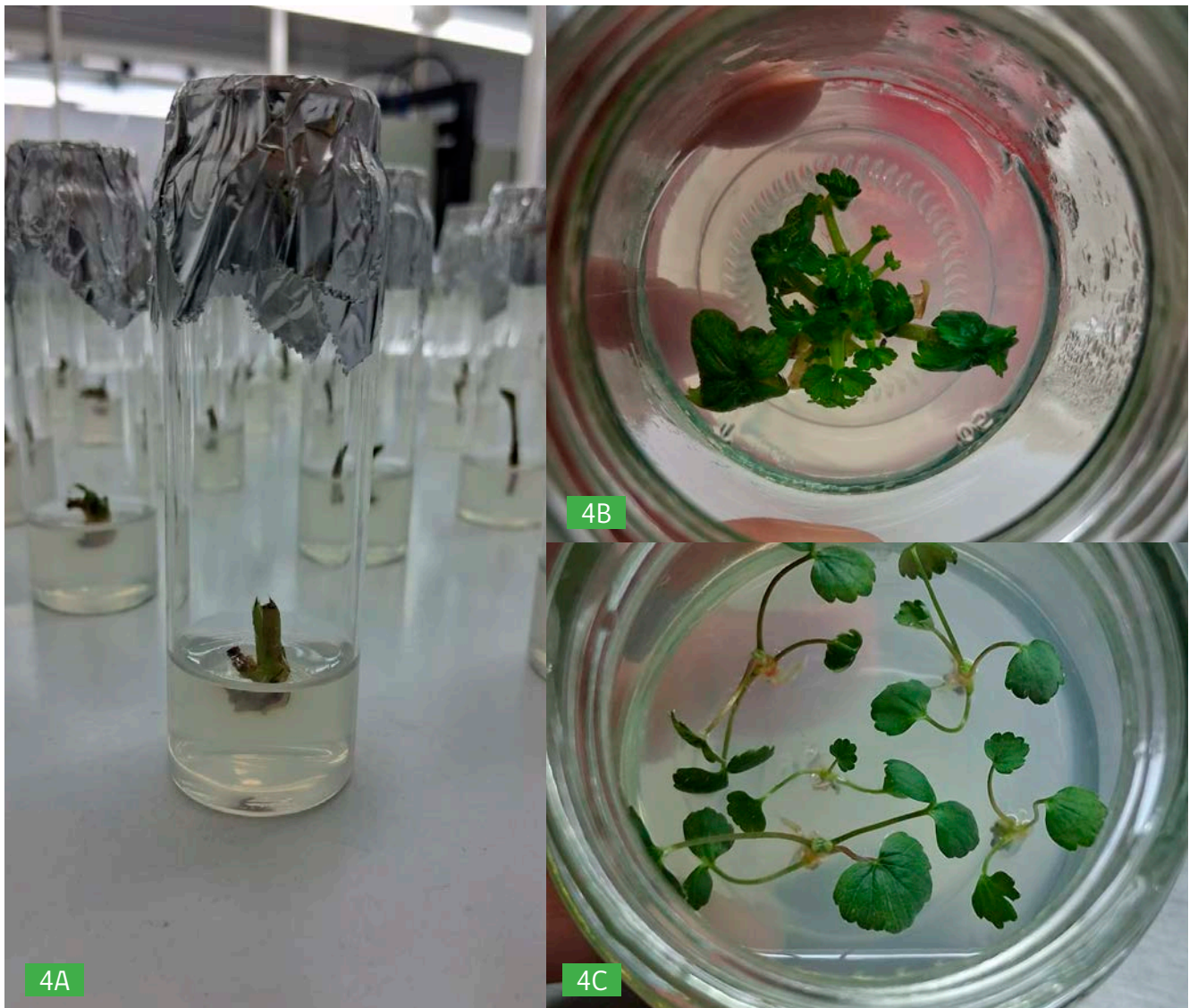


Figura 4. Yemas axilares de los estolones introducidas en medio de cultivo (4A), multiplicación de plantas en condiciones *in vitro* (4B) y establecimiento de nuevas plantas *in vitro* (4C).

6. Enraizamiento *in vitro*

Posterior a la etapa de multiplicación, los brotes de mayor tamaño son transferidos a frascos con medio de cultivo MS suplementado con hormonas que favorecen la producción de raíces, tales como IBA (Figura 5A).



5A



5B

Figura 5. Plantas enraizadas *in vitro* (5A), plantas establecidas *ex vitro* (5B).

7. Aclimatación *ex vitro*

La transición de las plantas cultivadas *in vitro* a las condiciones ambientales externas requiere de un proceso de aclimatación gradual, por ello, una vez desarrollado el sistema radicular, las plantas son trasplantadas en bandejas con sustrato y mantenidas en cámaras de aclimatación con control de humedad (80 %) y temperatura de entre 20 a 24 °C (Figura 5B). Después de aclimatadas, las plantas son transferidas a contenedores individuales y mantenidas en sombraderos y/o invernaderos para su vigorización y posterior traslado a campo (Figura 6).

¿A qué prestarle mayor atención al iniciar el cultivo *in vitro*?

Selección del explante:

La elección del tejido vegetal adecuado es crucial para el éxito del cultivo *in vitro*.

Composición del medio de cultivo:

Se deben utilizar medios de cultivo específicos para el material que se pretende introducir, ajustando la concentración de nutrientes y reguladores de crecimiento.

Control de las condiciones ambientales:

La temperatura, humedad e iluminación deben ser cuidadosamente controladas para favorecer el crecimiento de las plantas.

Aclimatación:

La transición de las plantas cultivadas *in vitro* a las condiciones ambientales externas requiere de un proceso de aclimatación gradual.

Consideraciones finales

- Los agricultores deben iniciar el cultivo con plantas completamente sanas, cuyo origen garantice su calidad sanitaria y genética. No obstante, siempre es necesario considerar que no sólo la calidad genética es importante para su desarrollo productivo, ya que una fracción considerable del éxito de un cultivo depende de la calidad de la planta y el correcto manejo agronómico que se realice de cada huerto.

La presente publicación entrega resultados parciales obtenidos en el marco del programa "Transferencia generación de Banco de Germoplasma para la obtención de plantas de calidad" financiado por el Gobierno Regional del Maule y ejecutado por INIA Raihuén Código BIP 40042526-0

Permitida la reproducción total o parcial de esta publicación citando la fuente y autores. La mención o publicidad de productos no implica recomendación INIA. Más información: Carmen Gloria Morales Alcayaga, carmengloria.morales@inia.cl. Fono: +569 63010593. INIA Raihuén. Av. Esperanza s/n, Estación Villa Alegre, comuna de Villa Alegre, Región del Maule.

www.inia.cl

