

7. EL CULTIVO DE TEJIDOS IN VITRO Y SU APLICACION EN EL CULTIVO DE LA FRESA.

Autor: J. Juarez Roldán.
Ingeniero Técnico Agrónomo.

Tradicionalmente la fresa se ha multiplicado vegetativamente con el fin de mantener las características varietales. Esto explica la gran diseminación de enfermedades producidas por virus y micoplasmas, nematodos, hongos del suelo y tarsonemus, que se transmiten directa o indirectamente a la descendencia.

La presencia de estas plagas y enfermedades causa diversos daños de gran importancia económica, no solo por la disminución de la producción y calidad de los frutos, sino también por el aumento del número de tratamientos fitosanitarios, con el consiguiente incremento de los gastos de cultivo. Entre los daños producidos por virus y micoplasmas, cabe destacar una pérdida de vigor y productividad, con la consiguiente disminución del rendimiento que, en algunos casos como en el del complejo viral "*strawberry mild yellow edge*", puede llegar al 80% en algunos cultivares. Los efectos producidos por nematodos y tarsonemus se traducen asimismo en una sustancial disminución de la producción. Los daños producidos por los hongos del suelo son en la actualidad los más importantes y fundamentalmente los producidos por los del género *Phytophthora* y *Verticillium*, cuyo control o erradicación es siempre dificultosa, cuando no imposible, aun siguiendo la normativa vigente en la desinfección de viveros contra estos parásitos.

Con estos antecedentes se hace evidente que es necesaria la utilización de plantas sanas en las plantaciones comerciales, siendo por tanto imprescindible efectuar el saneamiento del material inicial que se utiliza en los procesos de propagación comercial de la fresa.

7.1 Obtención de material sano.

La metodología para la obtención del material sano consta de los siguientes pasos:

- a) Selección de las plantas madre. Esta selección se efectúa en los campos de cultivo ateniéndose a las características agronómicas de las plantas.

- b) Comprobación del estado sanitario. Para determinar la presencia o no de virus en la planta seleccionada, éstas se inoculan en plantas indicadoras específicas cultivadas en invernadero con temperatura controlada. Estas plantas muestran una sintomatología característica cuando el virus está presente en la planta problema.

- c) Utilización de la técnica de cultivo de ápices in vitro a partir de plantas tratadas por termoterapia. La técnica consiste en someter a las plantas madre seleccionadas a un tratamiento térmico de 38°C desde unos pocos días hasta varias semanas, dependiendo de los virus a eliminar. Una vez sometidas las plantas a este tratamiento, se aíslan ápices de 0,2-0,5 mm de longitud procedentes de estolones previamente esterilizados superficialmente y se cultivan en condiciones asépticas en tubos de ensayo con medios adecuados que permitan su desarrollo in vitro (**Figura nº1**). Pasados 3-4 meses, los ápices se desarrollan formando plantas que se trasplantan a macetas en el invernadero.

- d) Una vez las plantas obtenidas han alcanzado el tamaño adecuado, se someten a un análisis similar al explicado para las plantas madre, con el fin de comprobar la eficacia de la técnica y determinar si estas plantas están efectivamente libres de virus.

La técnica descrita anteriormente no sólo permite obtener plantas libres de virus, sino que al utilizar ápices muy pequeños y realizarse los cultivos en condiciones de total esterilidad, se eliminan simultáneamente hongos, bacterias y todo tipo de parásitos que puedan afectar a este cultivo.

Finalmente y antes de proceder a su multiplicación comercial es necesario efectuar las consiguientes comprobaciones varietales, con el fin de no introducir en el proceso de multiplicación ninguna planta con una posible alteración varietal.

Una vez finalizado el proceso de saneamiento se puede comenzar el proceso de multiplicación que puede hacerse de la manera tradicional por estolonado o bien por micromultiplicación in vitro, que es el proceso que vamos a describir aquí.

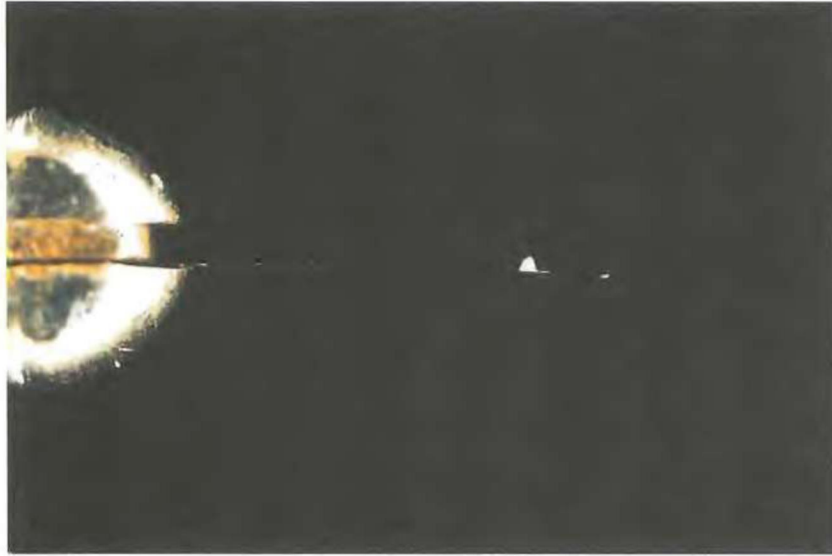


Figura nº1 Apice aislado de 0,3 mm. de longitud utilizado en el proceso de saneamiento.

7.2 Micromultiplicación in vitro.

La micromultiplicación in vitro es probablemente la técnica de cultivo de tejidos más extendida y se utiliza rutinariamente tanto en plantas hortícolas como ornamentales y forestales. Esta técnica permite la obtención de un gran número de plantas a partir del cultivo in vitro de un tejido u órgano de la planta madre. El proceso requiere una reducida cantidad de espacio y tiempo y se realiza en condiciones controladas.

La técnica de micropropagación in vitro consta de las siguientes fases:

- **a) Establecimiento del cultivo.** El objetivo de esta fase es la obtención de cultivos estériles y una buena tasa de supervivencia. En el caso de la fresa el explante generalmente utilizado para la iniciación del cultivo es el ápice de los estolones, aunque también se puede utilizar cualquier otro tipo de yema vegetativa (**Figura nº 2**).

- **b) Fase de propagación.** Esta fase tiene por objeto la obtención de un gran número de brotes en la menor cantidad de tiempo. En nuestro caso la multiplicación se lleva a cabo en un medio de cultivo en el que es determinante la acción de las citoquininas/auxinas, que provocan el desarrollo de brotes o tallos a partir de las yemas axilares del explante inicial. La tasa normal de multiplicación obtenida en esta fase es de 4-6 tallos por cultivo y mes (**Figura nº 3**). El proceso puede repetirse casi indefinidamente, volviendo a cultivar los brotes producidos para provocar la multiplicación de los mismos. Como el proceso de multiplicación

tiene un crecimiento geométrico, a partir de un solo explante es teóricamente posible obtener varios millones de plantas en un año.

- **c) Fase de enraizamiento.** Una vez los brotes obtenidos en la fase anterior alcanzan el desarrollo adecuado se repican a un medio de cultivo que contiene auxinas para forzar la iniciación y desarrollo de las raíces. Los cultivos permanecen en este medio aproximadamente durante un mes, tiempo en el que se alcanza un sistema radicular idóneo para su trasplante a suelo (**Figura nº 4**).

- **d) Trasplante a suelo.** Una vez lavadas las plántulas para eliminar los restos del medio de cultivo, el trasplante se efectúa a un sustrato estéril compuesto de turba y arena con una fertilización de fondo. Las plántulas se colocan en condiciones de humedad relativa alta, reduciéndose ésta poco a poco hasta que las plantas pueden someterse a las condiciones standard del invernadero.



Figura nº 2 Apice cultivado en el medio de iniciación al cabo de tres semanas de cultivo.



Figura nº 3 Fase de multiplicación.



Figura nº4 Fase de enraizamiento.

7.3 Características de las plantas obtenidas.

Las plantas obtenidas por este sistema (**Figura nº 5**) generalmente presentan escasas diferencias de comportamiento agronómico con respecto a las obtenidas por el sistema tradicional, teniendo una alta estabilidad fenotípica tanto en viveros de multiplicación como en campos de fructificación, así como una mayor capacidad de estolonado. Solo en casos en los que se sometieron los cultivos a un número excesivo de repicados en la fase de multiplicación o cuando la relación hormonal en el medio de cultivo no era la adecuada, se han presentado aisladamente algunos casos de malformaciones genéticas, con una incidencia muy baja. En estas condiciones se recomienda por la mayoría de los autores no dar más de 10 repicados en la fase de multiplicación, así como mantener lo más baja posible la cantidad de citoquininas en el medio que permita una tasa de multiplicación aceptable.

Como resumen podemos decir que en la mayoría de los países productores de fresa se utiliza este sistema de una manera rutinaria en sus programas de multiplicación.

En conclusión, la técnica de micropropagación tiene una gran importancia fundamentalmente cuando se trata de comercializar nuevas variedades, ya que presenta una gran reducción de tiempo con relación al sistema tradicional. Así mismo permite una mayor producción anual de cara a la demanda de plantas de los viveristas por parte del sector productor que no podría ser cubierta con los sistemas tradicionales de multiplicación.



Figura nº5 Plantas obtenidas en el proceso de micropropagación.