



## Organogénesis indirecta en fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) usando dos tipos de explantes

### Indirect organogenesis in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) using two explant types

Gabriela Alexandra García-Carrasco<sup>1</sup>; Arturo Adolfo Arbulú-Zuazo<sup>2\*</sup>; Henry Robles-Cueva<sup>2</sup>; Humberto Rivera-Calle<sup>1</sup>; Luis Conrado Guzmán-Farfán<sup>3</sup>

1 Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú. Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias. Ciudad Universitaria Urb. Miraflores S/N. Castilla. Piura. Perú.

2 Centro de Innovación Productiva y Transferencia Tecnológica Agroindustrial Piura (CITE Agroindustrial Piura), Piura, Perú. Calle Ramón Mugica N°131. Of. Q 209. Urb. San Eduardo I Etapa. Piura. Piura. Perú.

3 Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú. Facultad de Agronomía. Ciudad Universitaria Urb. Miraflores S/N. Castilla. Piura. Perú.

\* Autor corresponsal: [arturo.arbulu@citeagropiura.org](mailto:arturo.arbulu@citeagropiura.org) (A. A. Arbulú-Zuazo).

ORCID de Autores:

G. A. García-Carrasco: <https://orcid.org/0009-0000-3102-1670>

H. Robles-Cueva: <https://orcid.org/0000-0002-2817-573X>

L. C. Guzmán-Farfán: <https://orcid.org/0000-0002-2780-571X>

A. A. Arbulú-Zuazo: <https://orcid.org/0000-0002-5541-0416>

H. Rivera-Calle <https://orcid.org/0000-0001-8472-2067>

#### RESUMEN

La propagación *in vitro* es importante por generar producción masiva de plantas homogéneas, libres de enfermedades y de gran calidad. El objetivo fue desarrollar un protocolo de organogénesis indirecta en fresa. Se usó dos explantes: hojas cotiledonares e hipocótilo. En desinfección se usaron tres concentraciones de hipoclorito de sodio (0,9; 1,1 y 1,3 %); en inducción a callos, se utilizó el medio basal MS con 2,4 D (0,2 mg·L<sup>-1</sup> y 1 mg·L<sup>-1</sup>) y BAP (0,1 mg·L<sup>-1</sup>) o TDZ (1 mg·L<sup>-1</sup>); y, en regeneración de brotes, el medio basal MS con BAP (2 mg·L<sup>-1</sup>), TDZ (0,5 mg·L<sup>-1</sup>) y 2,4 D (0,2 mg·L<sup>-1</sup>) o ANA (0,2 mg·L<sup>-1</sup>). El diseño estadístico fue factorial 2x3 Completamente al azar. Los resultados, en hojas cotiledonares e hipocótilo, indicaron que el NaClO al 1,3% fue el más apropiado en desinfección, mientras que, el medio para inducir mayor porcentaje de callos fue con 0,2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4 D y 1 mg·L<sup>-1</sup> TDZ. Los mayores porcentajes de regeneración de brotes en hojas cotiledonares e hipocótilo fueron con los tratamientos de 2,4D y ANA respectivamente. El protocolo obtenido se constituye en un instrumento de valor para futuras investigaciones.

**Palabras clave:** Callo; micropropagación; regeneración; reguladores de crecimiento.

#### ABSTRACT

*In vitro* propagation is important for regenerating mass production of homogeneous, disease-free, and high-quality plants. The objective was to develop an indirect organogenesis protocol in strawberry. It used two explants: cotyledonary leaves and hypocotyls. The disinfection stage used three concentrations of sodium hypochlorite (0.9; 1.1 and 1.3%). Callus induction was carried out using MS basal medium with 2,4-D (0.2 mg·L<sup>-1</sup> and 1 mg·L<sup>-1</sup>) and BAP (0.1 mg·L<sup>-1</sup>) or TDZ (1 mg·L<sup>-1</sup>). Shoot regeneration used MS basal medium with BAP (2 mg·L<sup>-1</sup>), TDZ (0.5 mg·L<sup>-1</sup>), and 2,4-D (0.2 mg·L<sup>-1</sup>) or ANA (0.2 mg·L<sup>-1</sup>). It was used a completely random statistical design in a 2x3 factorial. For both cotyledonary leaves and hypocotyls, the results indicated that 1.3% NaClO was the most appropriate for disinfection; while the optimal medium for inducing a higher percentage of callus was 0.2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D and 1 mg·L<sup>-1</sup> TDZ. The best results for shoot regeneration were the medium supplemented with 0.2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D for regenerating cotyledonary leaves, and 0.2 mg·L<sup>-1</sup> ANA for hypocotyls. The development of a protocol through indirect organogenesis of strawberries constitutes a valuable tool for future research.

**Keywords:** Callus; growth regulators; micropropagation; regeneration.

Recibido: 28-11-2025.

Aceptado: 02-06-2026.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

## INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) es una especie cultivada de la familia Rosaceae con un fruto que tiene un significativo valor económico a nivel global (Li et al., 2025; Li et al., 2026), debido a su composición nutricional y ser fuente importante de folatos, vitamina C, fibra, potasio, flavonoides, antocianinas, antioxidantes y su distintivo sabor (Chung y Ouyang, 2021; Neri et al., 2022; Ramlal et al., 2025). En la última década, se ha observado un notable aumento en la producción de fresa, alcanzando un volumen total de 8,9 millones de toneladas durante el año 2020, siendo China el principal productor con una producción de 3,36 millones de toneladas (Arias et al., 2020; Food and Agriculture Organization-FAO, 2021; Li et al., 2026). Debido a la importancia del cultivo, actualmente se hace necesaria la exploración de nuevos métodos tanto de propagación como de mejoramiento, con miras a la búsqueda de variedades con mejor calidad de fruta y capacidad de producción en gran volumen (García, 2022; Gupta, 2022). En ese sentido el uso de técnicas de micropropagación, particularmente aquellas enfocadas en organogénesis, pueden convertirse en alternativas prometedoras para la producción masiva de plantas de fresa de alta calidad, dado que poseen ciertas ventajas importantes como menor cantidad de material inicial, reducción del tiempo de proliferación, mayor control sanitario del material que se propaga y facilidad en el transporte (Chomboon & Lohasupthawee, 2022). El cultivo de tejidos ha permitido la multiplicación masiva en un tiempo corto de plantas *in vitro*, ya sea por regeneración directa o indirecta, y que tendrán un mayor rendimiento, vigor, resistencia a las plagas comparadas con las plantas propagadas convencionalmente (Banerjee et al., 2023).

La organogénesis es un proceso que implica en la formación *de novo* de órganos (raíces y/o brotes

adventicios) a partir de explantes cultivados *in vitro* (Bidabadi & Jain, 2020). El tipo de explante y el tratamiento con reguladores de crecimiento han sido los principales factores que afectan la regeneración de la planta y, últimamente la eficiencia de la transformación genética (Akter et al., 2024; Kim et al., 2024; Lu et al., 2026). Para ello, se requirió el uso de nutrientes adecuados que favorecieron el crecimiento y la diferenciación de los tejidos, asimismo el medio de cultivo utilizado estuvo suplementado con fitorreguladores que favorecieron la regeneración de la planta (Long et al., 2022). Dentro de estos, los más utilizados incluyen a las auxinas (ácido indolbutírico - IBA, ácido indolacético - AIA, ácido naftalénacético - ANA), citoquininas (6-bencilaminopurina - BAP, ácido 2,4 diclorofenoxiacético - 2,4-D), ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) y ácido absicico (ABA) (Agudelo et al., 2021). Previos estudios han explorado los distintos procesos incluidos en la organogénesis de fresa como la inducción de callos y la regeneración de brotes adventicios a partir de diferentes tipos de explantes, medios de cultivo, fitorreguladores y carbón activado, logrando resultados y protocolos eficaces (Hasan et al. 2010; Kim et al., 2024; Palei et al. 2017). El uso del Thidiazuron (TDZ) en el medio básico solo o en combinación con ANA o IBA fueron muy eficientes en la inducción de callos y regeneración de brotes (Li et al., 2026; Redhwan et al., 2026), y similar respuesta con el medio MS suplementado con BAP y Kinetina o 2,4-D (Aboksari et al., 2026; Sahu et al., 2026).

La optimización y ajuste de los protocolos de micropropagación a las condiciones específicas de cada laboratorio es un aspecto clave para garantizar el éxito del proceso. Debido a ello, la presente investigación tuvo como objetivo desarrollar y estandarizar un procedimiento de inducción de organogénesis indirecta a partir de dos tipos de explantes de fresa: hojas cotiledonares e hipocótilo.

## METODOLOGÍA

### Metodología del proceso de organogénesis indirecta (Figura 1)

#### Obtención de material vegetal

Se utilizaron frutos de fresa de la variedad Chandler adquiridos en el mercado Modelo de Piura, Perú (5° 11' 18,53" S, 80° 38' 2,06" W). Se seleccionaron los frutos con buena conformación, sin heridas ni daños, sin problemas sanitarios y maduros. Estos frutos fueron llevados al laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales *in vitro* del Centro de Innovación Tecnológica Agroindustrial de Piura - CITEagro Piura (5° 10' 30,20" S, 80° 38' 14,51" W) donde se realizó la remoción y germinación de las semillas hasta que tuvieron un tamaño de entre 1,5 y 2 cm.

#### Desinfección

Las plántulas de fresa germinadas fueron sometidas a diferentes tratamientos de desinfección utilizando 3 concentraciones de hipoclorito de sodio (0,9; 1,1 y

1,3%). Se seleccionaron 72 plántulas de fresa, que fueron sometidas, en grupos de 24, a los diferentes tratamientos de desinfección. Este proceso se realizó en una cámara de flujo laminar, donde las plántulas fueron sumergidas en alcohol de 70° durante 30 segundos, luego se colocaron en hipoclorito de sodio (concentraciones según el tratamiento) durante 5 minutos y finalmente fueron enjuagadas 3 veces con agua destilada estéril.

Después de la desinfección, se aislaron los dos tipos de explantes de las plántulas (hojas cotiledonares e hipocótilo), se colocaron en placas de Petri conteniendo medio MS (Murashige & Skoog, 1962) y luego fueron incubados en el área de crecimiento por 35 días a una temperatura de 28 °C día/noche, fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (García, 2022). Se usó como fuente de luz un fluorescente de luz blanca de 32 W.

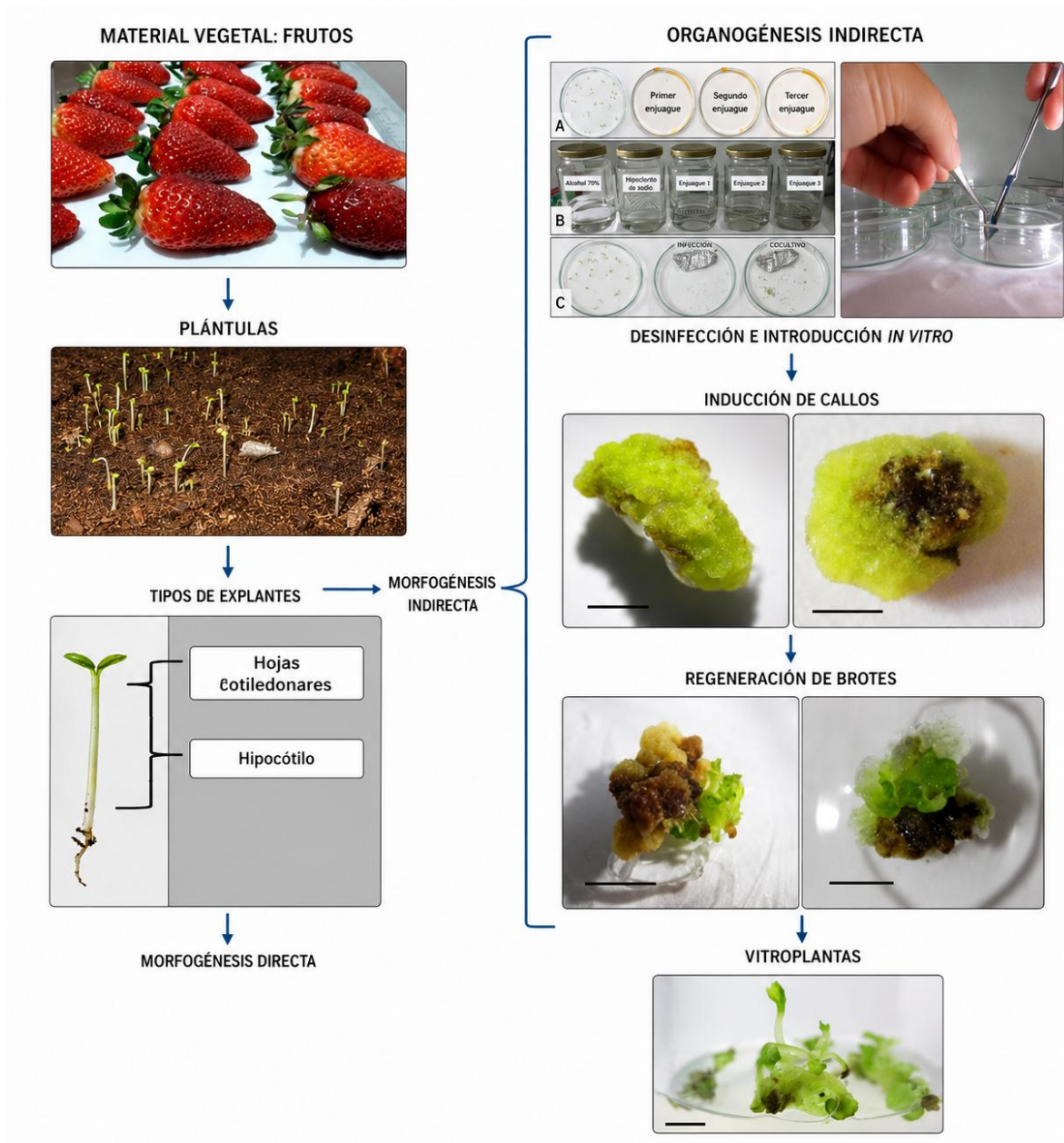


Figura 1. Diagrama del Proceso de Inducción de Organogénesis Indirecta de la fresa.

**Inducción de callos**

Culminada la desinfección se procedió con la inducción de callos. Se utilizaron 36 explantes de hojas cotiledonares y 36 de hipocótilo; para ello, el medio de cultivo MS fue complementado con

distintos reguladores de crecimiento (Tabla 1) en 3 combinaciones: T1) MS basal; T2) MS + 1,0 mg·L<sup>-1</sup> 2,4D + 0,1 mg·L<sup>-1</sup> BAP, y T3) MS + 0,2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4D + 1,0 mg·L<sup>-1</sup> TDZ (García, 2022).

**Tabla 1**

Reguladores de crecimiento usados en los ensayos

Clase de Regulador de crecimiento	Nombre del regulador de crecimiento	Abreviación	Concentración
Auxinas	Ácido Naftalenacético	ANA	1 mg ml <sup>-1</sup>
	Ácido Diclorofenoxiacético	2,4-D	1 mg ml <sup>-1</sup>
Citoquininas	Bencilaminopurina	BAP	1 mg ml <sup>-1</sup>
	Thidiazuron	TDZ	1 mg ml <sup>-1</sup>

Los explantes fueron sembrados en condiciones asépticas en placas de Petri conteniendo las diferentes combinaciones de medio de cultivo con reguladores de crecimiento. Posteriormente, las placas fueron selladas con *parafilm* y trasladadas al área de crecimiento en oscuridad para mantenerse en incubación durante 35 días con las condiciones de temperatura descritas previamente (García, 2022).

### Regeneración de brotes

Seleccionado el mejor tratamiento de inducción de callos, según el análisis estadístico, se continuó con la inducción del proceso de regeneración y formación de brotes. Se utilizaron 36 explantes de hojas cotiledonares y 36 de hipocótilo. Para ello se utilizó el medio de cultivo MS complementado con distintos reguladores de crecimiento (Tabla 1) en tres combinaciones: T1) MS basal; T2) MS + 2,0 mg·L<sup>-1</sup> BAP + 0,5 mg·L<sup>-1</sup> TDZ+ 0,2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4D, y T3) MS + 2,0 mg·L<sup>-1</sup> BAP + 0,5 mg·L<sup>-1</sup> TDZ+ 0,2 mg·L<sup>-1</sup> ANA (García, 2022).

Al igual que en la inducción de callos, los explantes fueron sembrados en condiciones asépticas en placas de Petri con las diferentes combinaciones de medio de cultivo con reguladores de crecimiento y luego fueron selladas con *parafilm* y trasladadas al área de crecimiento en oscuridad para mantenerse en incubación durante 42 días con las condiciones de temperatura descritas previamente.

### Enfoque y diseño experimental

El estudio se realizó siguiendo un enfoque cuantitativo experimental y fue subdividido en 3 etapas (desinfección, inducción de callos y regeneración) con el propósito de optimizar los

procesos de manera independiente para lograr el objetivo general. En cada etapa se utilizaron dos tipos de explantes de fresa y a cada uno de ellos se le aplicaron 3 tratamientos con 3 repeticiones bajo un diseño factorial 2x3 completamente aleatorio.

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos en porcentajes fueron convertidos previamente al arco seno raíz cuadrada del porcentaje. A estos datos transformados se les hizo un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de los tratamientos. Cuando se encontraron efectos significativos, se aplicó una prueba de comparación de medias de HSD Tukey con una probabilidad de error del 5%. ( $p \leq 0,05$ ). Para los análisis se empleó el programa R versión 4.0.2 (R Development Core Team, 2020).

### Variables evaluadas

Se evaluaron las variables de contaminación, la tasa de inducción de callos y la tasa de regeneración de brotes. Para evaluar la contaminación se evaluó la efectividad de la desinfección efectuando contabilizando los explantes que se contaminaron y dividiendo entre el número total de explantes utilizados en la desinfección y se expresó este valor en porcentaje.

La tasa de eficiencia (%) de inducción de callos fue obtenida dividiendo el número de callos inducidos por el número total de explantes empleados y se expresó en porcentaje.

La tasa de eficiencia (%) de regeneración de brotes fue calculada dividiendo el número de brotes regenerados por el número total de los callos empleados para la regeneración y este valor se expresó en porcentaje.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Desinfección

En la prueba de análisis de varianza (ANOVA) realizada para esta característica el factor principal explantes no alcanzó significación estadística con un valor  $p=0,06794$ , es decir que las hojas cotiledonares y los hipocótilos usados en este proceso de desinfección no influyen.

Los tratamientos de desinfección tuvieron un efecto significativo sobre el porcentaje de contaminación ( $p=0,005327$ ), lo que se corroboró con la prueba de Tukey  $\leq 0,05$  realizada y donde el tratamiento de desinfección con 1,3% de NaClO presentó el menor porcentaje de contaminación en comparación con la desinfección efectuada con 0,9% y 1,1% de NaClO (Tabla 2). La prueba de ANOVA no encontró significación estadística para la interacción de los factores estudiados, obteniendo un valor  $p=0,976517$ , y solo se presentaron diferencias numéricas donde el tratamiento de desinfección con 1,3% de NaClO en ambos explantes alcanzaron mayor tasa de efectividad (Figura 2).

La organogénesis en fresa ha sido descrita previamente en diversas investigaciones, en las que se ha enfatizado el efecto de factores como genotipo, tipo de explante, reguladores del crecimiento y condiciones ambientales (Landi & Mezzetti, 2006; Wang et al., 2017; Chung & Ouyang, 2020).

La fase de introducción de material vegetal en total asepsia es un punto clave en desarrollo de ensayos de propagación vegetal *in vitro*, razón por la cual es necesaria la estandarización de protocolos o tratamientos de desinfección que permitan reducir o eliminar en su totalidad la contaminación producida por bacterias y/o hongos (García, 2022; Silva et al., 2015; Neri et al., 2022). Estos tratamientos suelen estar asociados con el uso de agentes desinfectantes, dentro de los que destaca el NaClO que tiene la capacidad de disminuir la tensión superficial de la membrana celular de los microorganismos, así como de inhibir las reacciones enzimáticas y promover la desnaturalización de las proteínas (Ramírez et al., 2014).

**Tabla 2**

Efecto de los explantes de fresa y los tratamientos de desinfección sobre el porcentaje de contaminación

Explantes	Contaminación (%)	Efectividad (%)	Tratamientos	Contaminación (%)	Efectividad (%)
E1	33,33±2,91 a	66,67	T1	70,83±3,90 b	29,17
E2	58,33±3,41 a	41,67	T2	54,17±2,57 b	45,83
			T3	12,50±2,00 a	87,50

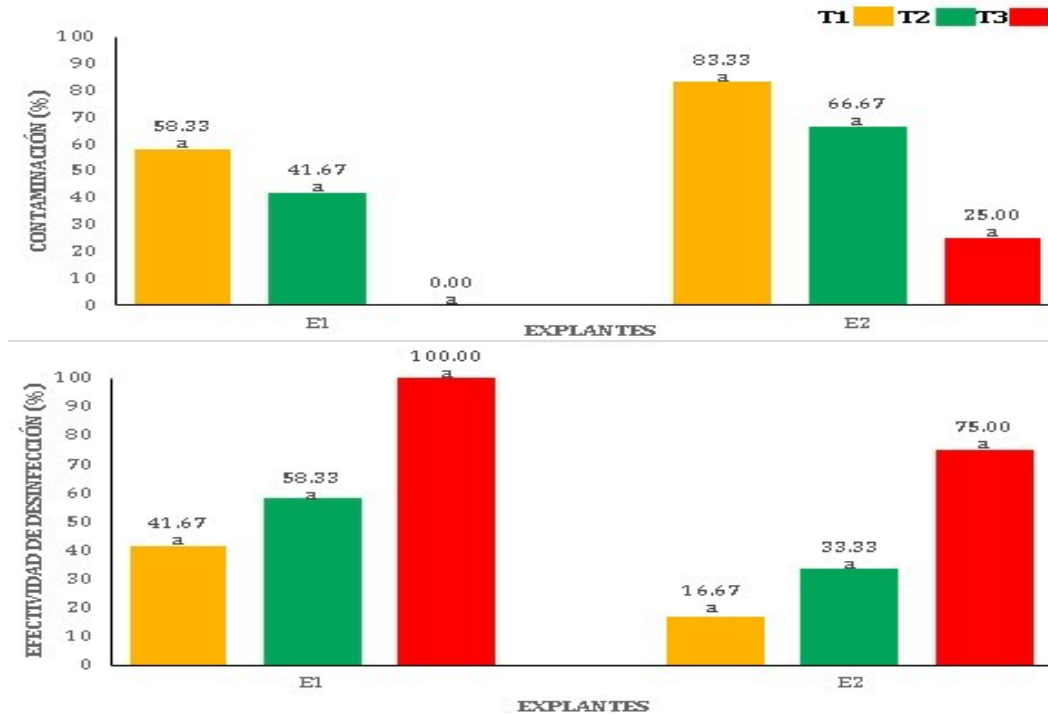
Promedios con letras diferentes son estadísticamente significativos según Tukey $\leq$ 0,05. Medias  $\pm$  error estándar.

En el presente estudio, los resultados indicaron que los menores porcentajes de contaminación (entre 0 y 25,00%) fueron obtenidos utilizando como desinfectante el NaClO al 1,3% en ambos tipos de explantes. Esto evidentemente reflejó la mayor efectividad de desinfección que proporcionó el uso de NaClO al 1,3% que en el explante compuesto por hojas cotiledonares alcanzó el 100% de efectividad. Resultados similares fueron obtenidos en fresa (Mamani & Murillo, 2020; Neri et al., 2022; Ramlal et al., 2025) y en otros miembros de la familia Rosaceae como ciruelo *Prunus domestica* (Ugur, 2020) y rosa *Rosa damascena* (Omid & Yadollahi, 2016), donde el menor porcentaje de contaminación se obtuvo con el uso de una concentración entre 0,8% y 2% de NaClO para la desinfección. Otros investigadores reportaron una desinfección eficiente de explantes con el uso de

bicloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>) al 0,1% por 3,5 minutos; además la combinación hipoclorito de sodio al 1,0% por 2,5 minutos y de etanol al 70% por 50 segundos (Nalini et al., 2021). En la especie *Acer truncatum* la contaminación fue de 4,74% utilizando 75% etanol por 30 segundos más 0,1% de bicloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>) por 10 minutos (Du et al., 2026).

### Inducción de callos

De acuerdo al ANOVA realizado se encontró un efecto significativo en los explantes en la etapa de inducción de callos con un valor de  $p=0,006753$ , y esto fue reafirmado al realizar la prueba de comparación de promedios de Tukey $\leq$ 0,05. EL tipo de explante de hojas cotiledonares superó estadísticamente al tipo de explante, hipocótilo en casi 17% en la inducción de callos (Tabla 3).



**Figura 2.** Porcentaje de Contaminación y Tasa de Efectividad de la Desinfección de los explantes de fresa. Promedios con letras diferentes son estadísticamente significativos según Tukey $\leq$ 0,05.

**Tabla 3**

Efecto de los explantes de fresa y los tratamientos sobre la inducción de callos

Explantes	Inducción de callos (%)	Tratamientos	Inducción de callos (%)
E1	44,44±4,32 a	T1	0,00±0,00 c
E2	27,78±1,47 b	T2	37,50±0,34 b
		T3	70,83±2,45 a

Promedios con letras diferentes son estadísticamente significativos según Tukey $\leq$ 0,05. Medias  $\pm$  error estándar

Existió un efecto estadísticamente significativo de los tratamientos de reguladores de crecimiento sobre el porcentaje de inducción de callos con un valor de  $p=1,22261E-07$ , efecto que se ratifica en la prueba de Tukey  $\leq 0,05$ . El tratamiento T3 con el medio MS suplementado con  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de 2,4 D y  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de TDZ indujo el porcentaje de callos más elevado seguido del tratamiento T2 con el medio MS adicionado con  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de 2,4 D y  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de BAP.

La interacción de los factores explantes y tratamientos mostró un efecto estadísticamente significativo con un valor de  $p=0,008955$  en la prueba de ANOVA y que se reafirmó en la prueba de comparación de promedios de Tukey  $\leq 0,05$  (Figura 3), donde se visualiza que el tratamiento T3 con el medio MS suplementado con  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de 2,4 D y  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de TDZ, en ambos tipos de explantes, fue superior estadísticamente a los demás tratamientos en la inducción de callos. Cabe mencionar que cuando se utilizó solo medio basal (T1) no se observó la formación de callos en ninguno de los explantes.

Posterior a la introducción del explante a condiciones *in vitro*, la formación de callos es una etapa característica de la organogénesis indirecta (Martín et al., 2015). El uso del explante hojas cotiledonares (E1) obtuvo la mayor tasa de inducción de callos con  $44,44 \pm 4,32\%$  superando estadísticamente al tipo de explante hipocótilo. Otros investigadores han reportado hasta una tasa de eficiencia de 90% en inducción de callos con el uso de tiras de hojas como explante (Akter et al., 2024). Los resultados señalaron que, durante esta etapa, no se observó la formación de masas celulares indiferenciadas cuando se utilizó solo medio de cultivo basal, lo cual pone de manifiesto la necesidad del uso de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo para la estimulación de callos (Córdova et al., 2014; García, 2022). Los reguladores de crecimiento relacionados con este proceso son las auxinas y citoquininas, cuya combinación y concentración dentro del medio de cultivo resulta clave (Alcántara et al., 2019). Mientras que las auxinas inducen el crecimiento celular al inducir la expresión de genes relacionados con el aumento de la plasticidad y ablandamiento de la pared celular (Córdova et al., 2014), las citoquininas afectan directamente la división celular al estar relacionadas con la regulación del ciclo celular, la

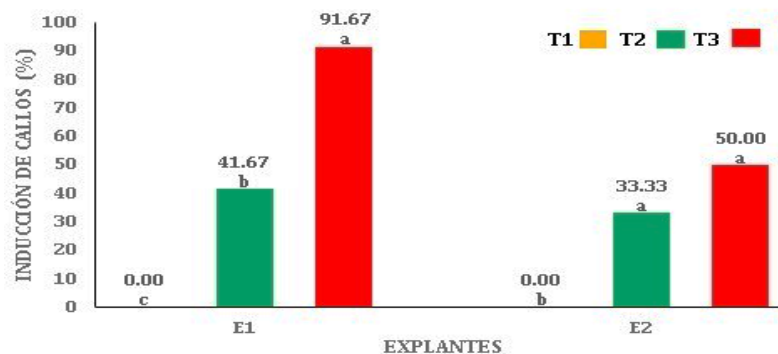
formación de brotes y el retraso de la senescencia (George et al., 2007).

Los resultados señalaron que los tratamientos compuestos por medio MS complementado con  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4D y  $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  TDZ produjeron mayores porcentajes de inducción de callos en ambos explantes ( $91,67 \pm 3,02\%$  en hojas cotiledonares y  $50,00 \pm 0,00\%$  en hipocótilo) por lo que se puede afirmar que la mejor respuesta en la inducción de callos se obtuvo cuando se aplicó una concentración menor de auxina y mayor de citoquinina (Hernández et al., 2025). Resultados exitosos de porcentajes de inducción de callos cercano a 100% usando las mismas combinaciones de reguladores han sido previamente reportados en fresas de variedad Calypso (Cappelletti et al., 2016). Similares respuestas en la inducción de callos se han reportado utilizando la combinación de 2,4D y TDZ (97,3%) (Chung y Ouyang, 2021; Redhwan et al., 2026). Akter et al. (2024) reportaron 90% de inducción de callos usando tiras de hojas y con la combinación de reguladores de crecimiento  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de 6-benzylaminopurina y  $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de ácido naftalenacético. Se han reportado resultados de hasta 100% de inducción de callos en hipocótilos y cotiledones de la especie *Physalis peruviana* con el uso de  $0,5 - 0,25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de 2,4-D más  $0,1 - 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de BAP, respectivamente (Hernández & Chico, 2020). En especies ornamentales como la azucena y el lirio se reportaron para la inducción de callos, tasas de 77,78% y 85,00% (Aboksari et al., 2026; Lu et al., 2026).

### Regeneración de brotes

La prueba de ANOVA para esta característica determinó que no hubo significación estadística para el factor explantes al presentar un valor de  $p=0,410467$  lo que se confirmó al realizar la comparación de promedios de Tukey  $\leq 0,05$ .

Se presentó un efecto estadísticamente significativo de los tratamientos de reguladores de crecimiento sobre la regeneración de brotes con un valor de  $p=0,006835$ . En la Tabla 4 se visualiza que el tratamiento T3 compuesto por el medio MS adicionado con  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de BAP,  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de TDZ y  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de 2,4 D presentó el mayor porcentaje de regeneración de brotes y superó estadísticamente al tratamiento T1 que solo utilizó el medio basal.



**Figura 3.** Efecto de los medios y reguladores de crecimiento sobre el porcentaje de inducción a callos en el proceso de organogénesis indirecta en fresa. Promedios con letras diferentes son estadísticamente significativos según Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabla 4**

Efecto de los explantes de fresa y los tratamientos sobre la regeneración de brotes

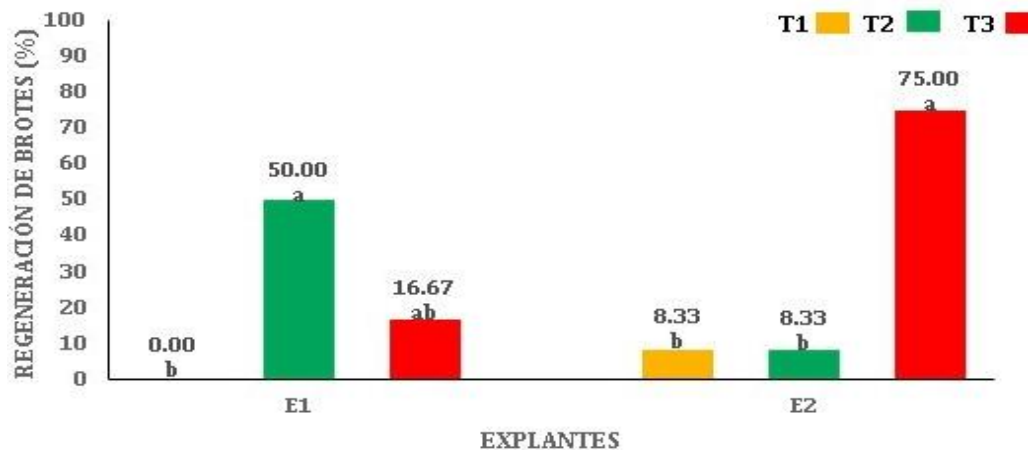
Explantes	Regeneración de brotes (%)	Tratamientos	Regeneración de brotes (%)
E1	22,22±1,72 a	T1	4,17±0,76 b
E2	30,55±3,47 a	T2	29,17±2,90 ab
		T3	45,83±4,68 a

Promedios con letras diferentes son estadísticamente significativos según Tukey $\leq$ 0,05. Medias  $\pm$  error estándar

Para el caso de la interacción ( $p=0,004489$ ), en los explantes de las hojas cotiledonares (Figura 4), el tratamiento T2 compuesto por el medio MS adicionado con 2 mg·L<sup>-1</sup> de BAP, 0,5 mg·L<sup>-1</sup> de TDZ y 0,2 mg·L<sup>-1</sup> de 2,4 D presentó el mayor porcentaje de regeneración. Contrariamente, al utilizar como explante el hipocótilo se observó que el tratamiento T3 compuesto por el medio MS suplementado con 2 mg·L<sup>-1</sup> de BAP, 0,5 mg·L<sup>-1</sup> de TDZ y 0,2 mg·L<sup>-1</sup> de ANA mostró el porcentaje de regeneración más elevado, comparado al tratamiento T2 (medio MS con 2 mg·L<sup>-1</sup> de BAP, 0,5 mg·L<sup>-1</sup> de TDZ y 0,2 mg·L<sup>-1</sup> de 2,4 D) y el tratamiento T1 compuesto por el medio basal MS que solo alcanzaron un 8,33±3,02% de regeneración de brotes.

Al igual que en la etapa anterior, las auxinas y las citoquininas también juegan un papel importante en la regeneración de brotes, siendo ésta a partir de la cual se considera concluido y exitoso el proceso de organogénesis (George *et al.*, 2007; Jhahjra *et al.*, 2018). En el caso de las hojas cotiledonares, el porcentaje más alto de regeneración de brotes (50,00±2,27%) se obtuvo con el tratamiento T2 compuesto por el medio MS suplementado con 2,0 mg·L<sup>-1</sup> BAP; 0,5 mg·L<sup>-1</sup> TDZ y 0,2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4D que resultaron casi similares a la más alta tasa de inducción de brotes (56,6%) obtenidos con el uso de tiras de hojas (Akter *et al.*, 2024). Estos resultados fueron inferiores a los obtenidos utilizando medio suplementado con IBA 3,0 mg·L<sup>-1</sup> y BAP 0,2 mg·L<sup>-1</sup> en fresas de variedad Sveva (Cappelletti *et al.*, 2016). Por su parte, en la regeneración de brotes a partir de hipocótilo, el mayor el porcentaje (75,00±5,24%) se consiguió con el tratamiento T3 compuesto por el

medio MS adicionado con 2,0 mg·L<sup>-1</sup> de BAP; 0,5 mg·L<sup>-1</sup> TDZ y 0,2 mg·L<sup>-1</sup> de ANA. Karmaker *et al.* (2023) reportaron para diferentes cultivares de fresa, el uso de 1,5 mg·L<sup>-1</sup> BA+0,5 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> que alcanzó entre 85 a 95% de regeneración de brotes. Otros investigadores han reportado hasta 100,00% de regeneración de brotes a los 42 días con el uso de 3 mg·L<sup>-1</sup> de TDZ más 0,2 mg·L<sup>-1</sup> de IBA (Li *et al.*, 2026). En la organogénesis directa para la fresa cv Chandler se ha reportado hasta 89,8% de regeneración de brotes (Palei *et al.*, 2025). De manera general, estos resultados corroboran que las bajas concentraciones de auxinas con altas concentraciones de citoquininas, en el caso de distintos tipos de explantes, promueven la formación de regenerantes (Naing *et al.*, 2019; García, 2022; Hernández *et al.*, 2025). La diferencia entre los tratamientos para la regeneración de callos en hojas cotiledonares e hipocótilos, puede estar fundamentada en las distintas respuestas que poseen los explantes de las especies vegetales ante las auxinas y citoquininas presentes en el medio de cultivo (Hernández & Chico, 2020). Estas respuestas pueden deberse a variaciones en el contenido endógeno de las hormonas en los explantes y a sus características anatómicas (Espinosa *et al.*, 2012). Por su parte, la afinidad expresada por los diferentes explantes, donde se observa que el mejor tratamiento para la regeneración a partir de hojas cotiledonares se da con el uso de 2,4D, mientras que el mejor tratamiento para la regeneración de hipocótilo se da con el uso ANA, puede ser explicada por la expresión diferencial de receptores de auxina en distintas partes de la planta (Lin *et al.*, 2013).



**Figura 4.** Porcentaje de regeneración de brotes durante el proceso de inducción de organogénesis indirecta en fresa. Promedios con letras diferentes son estadísticamente significativos según Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

De los resultados obtenidos se puede afirmar que se logró un protocolo básico y de valor para la organogénesis indirecta de la fresa basado en el uso del hipoclorito de sodio al 1,3% para la desinfección de explantes, el medio MS suplementado con 0,2 mg L<sup>-1</sup> de 2,4 D y 1 mg L<sup>-1</sup> de TDZ para la inducción de callos, y el medio MS adicionado con 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de TDZ y 0,2 mg L<sup>-1</sup> de ANA para la regeneración.

Se efectuó un comparativo entre los resultados (tasas de inducción de callos y regeneración de brotes) de la

investigación en relación con los reportados por otros investigadores (Tabla 5) notándose que las tasas encontradas en la investigación han sido eficientes en fresa, y en muchos casos superiores a los obtenidos en investigaciones que han trabajado con sistemas de transformación genética, efectos de tipos de luz, uso de *Agrobacterium tumefaciens*, diferentes tipos de explantes, diferentes combinaciones y concentraciones de reguladores de crecimiento y otras metodologías, resaltando la gran importancia de los resultados obtenidos en la investigación.

**Tabla 5**

Tasas de inducción de callos y regeneración de brotes de la investigación y de otros investigadores

ESPECIE	METODOLOGÍA	INDUCCIÓN CALLOS (%)	REGENERACIÓN BROTES (%)	REFERENCIA
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis Indirecta	50,00-91,67	50,00-75,00	(1)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis Indirecta	61,90-68,60	100,00	(Li et al., 2026)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis directa	-	68,30	(Hernández et al., 2025)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis directa	-	89,80	(Palei et al., 2025)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis Indirecta	90,00	56,60	(Aker et al., 2024)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis Indirecta	80,30	42,80-70,70	(Kim et al., 2024)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis Indirecta	-	85,00-95,00	(Karmaker et al., 2023)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis Indirecta	-	98,00	(Nalini et al., 2021)
<i>Fragaria x ananassa</i>	Organogénesis Indirecta	-	83,00-90,00	(Naing et al., 2019)
<i>Fritillaria pontica</i>	Organogénesis Indirecta	100,00	66,70	(Redhwan et al., 2026)
<i>Solanum tuberosum</i>	Organogénesis Indirecta	100,00	Gran regeneración	(Sahu et al., 2026)
<i>Plantago ovata</i>	Organogénesis Indirecta	62,00	Gran regeneración	(Sharma et al., 2026)
<i>Zantedeschia spp</i>	Organogénesis Indirecta	85,00	88,00	(Aboksari et al., 2026)
<i>Lilium longiflorum</i>	Organogénesis Indirecta	77,78	68,00-71,11	(Lu et al., 2026)
<i>Acer truncatum</i>	Organogénesis Indirecta	97,17	10,51	(Du et al., 2026)
<i>Nardostachys jatamansi</i>	Organogénesis Indirecta	93,33	68,00	(Joshi et al., 2026)
<i>Physalis peruviana</i>	Organogénesis Indirecta	50,00-100,00	20,00	(Hernández & Chico, 2020)

(1) Datos que corresponden a la Investigación.

## CONCLUSIONES

Se logró inducir la organogénesis indirecta en *Fragaria x ananassa* a partir de hojas cotiledonares e hipocótilo. En ambos tipos de explantes, el protocolo incluyó una desinfección con NaClO (1,3%), seguido de una combinación de 2,4D y TDZ en el medio de cultivo para la inducción a callos. En la regeneración de brotes se observó que la combinación de BAP, TDZ y 2,4D en el medio de cultivo fue más eficaz en el caso de las hojas cotiledonares; mientras que, en el hipocótilo, la combinación de BAP, TDZ y ANA resultó ser más apropiada. Estos resultados implican un avance importante en la propagación masiva de plantas de fresa que podrían ser fácilmente

replicados en otros laboratorios para mejorar la producción de esta especie a nivel comercial. Esta investigación proporciona un marco sólido en la regeneración vía organogénesis de la fresa y para desarrollar en el futuro estudios que incluyan las etapas de multiplicación, enraizamiento y aclimatación y así lograr un protocolo de micropropagación como alternativa a su producción masiva bajo condiciones controladas y en un futuro inmediato mejorar su cadena productiva seleccionando clones con características superiores con resistencia a enfermedades, productividad y mejor respuesta a condiciones climáticas.

## AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Innovación Productiva y Tecnológica Agroindustrial de Piura – CITEagroPiura, que brindó las instalaciones de su laboratorio de Cultivo de Tejidos

Vegetales para el desarrollo de esta investigación que generó la tesis de grado de la Bióloga Gabriela Alexandra García Carrasco, primera autora del artículo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aboksari, H. A., Zeinalabedini, M., Nalouei, A. M., Hashemidehkordi, E., & Azadi, P. (2026). Micropropagation and flowering of calla Lily via proliferative basal cluster enhancement by fipexide. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 164, 69. <https://doi.org/10.1007/s11240-026-03372-8>

Agudelo-Morales, C., Lerma T., Martínez Lara J., Palencia, M., & Combatt, E. (2021). Phytohormones and Plant Growth Regulators—A Review. *Journal of Science with Technological Applications*, 10, 27–65. <https://doi.org/10.34294/j.jsta.21.10.66>

- Akter, F., Wu, S., Islam, S., Kyaw, H., Yang, J., Li, M., Fu, Y., & Wu, J. (2024). An efficient *Agrobacterium*-Mediated Genetic Transformation System for Gene Editing in Strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Plants*, 13(5), 563. <https://doi.org/10.3390/plants13050563>
- Alcantara, J. S., Acero, J., Alcántara, J., & Sánchez, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109–129.
- Arias, F., Appellmann, T., Fernando, L., & Garcés, L. (2020). Import and export of strawberries in a global market. In: Sepúlveda, J.A. (ed.). *Ciencias económicas y contables, desafíos y retos para la competitividad. Coruniamericana. Colombia*. pp. 280-291.
- Banerjee, D., Singh, V., & Thakar, R. (2023). Micro propagation on strawberry: A Review. *E3S Web of Conferences*, 453, 01019. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202345301019>
- Bidabadi, S. S., & Jain, S. M. (2020). Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of *in Vitro* Plant Regeneration. *Plants*, 9(69), 702. <https://doi.org/10.3390/plants9060702>
- Cappelletti, R., Sabbadini, S., & Mezzetti, B. (2016). The use of TDZ for the efficient *in vitro* regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 207, 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.016>
- Chomboon, P., & Lohasupthawee, P. (2022). Mass propagation system of strawberry (*Fragaria x ananassa*) micro shoots by liquid shake culture. *Current Applied Science and Technology*, 22(1). <https://doi.org/10.55003/cast.2022.01.22.008>
- Chung, H. H., & Ouyang, H. Y. (2021). Use of Thidiazuron for High-Frequency Callus Induction and Organogenesis of Wild Strawberry (*Fragaria vesca*). *Plants*, 10(1), 67. <http://dx.doi.org/10.3390/plants10010067>
- Córdova, A. M., Cobos, M., Imán, S. A., & Castro, J. C. (2014). Un método eficiente para la inducción de callos *in vitro* en *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh “Camu Camu”. *Scientia Agropecuaria*, 5(1), 25–34. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.01.03>
- Du, Y., Zhao, W., Xin, M., Li, S., Zhu, L., Ma, Q. et al. (2026). *In vitro* regeneration of *Acer truncatum* via shoot organogenesis from stem explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 164, 4. <https://doi.org/10.1007/s11240-025-03321-x>
- Espinosa, A., Silva, J., Sariego, S., Cholo, L., & Delgado, H. (2012). Efecto del tipo de explante y la concentración de ácido 2,4-diclorofenoxiacético en la formación de callos en *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 35(4), 407–416.
- Food and Agriculture Organization - FAO. 2021. FAOSTAT. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Accesado el 8 de abril de 2023]
- García-Carrasco, G. A. (2022). Organogénesis indirecta a partir de segmentos de hojas cotiledonares e hipocótilo de Fresa (*Fragaria x ananassa* Duchesne 1766), Piura. Tesis de Grado. Escuela Profesional de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú.
- George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G. J. (2007). *Plant Propagation by Tissue Culture*. Springer. Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- Gupta, S. (2022). *In Vitro* Propagation and Conservation of *Fragaria* Species. En: *Recent Studies on Strawberries*. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.103095>
- Hasan, N., Nigar, S., Rabbi, M. A. K., Mizan, S. B., & Rahman, M. S. (2010). Micropopagation of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Dutch.). *Journal of Crop Production*, 5, 36–41.
- Hernández Ruiz, J., Rangel Castillo, A. E., Laguna Estrada, M. I., Alejandro Rojas, G. I., Mireles Arriaga, A. I., & Ruiz Nieto, J. E. (2025). Plantas de fresa regeneradas *in vitro* mediante organogénesis directa en diferentes concentraciones de auxinas y citocininas. *Bioagro*, 37(1), 123-134. <https://doi.org/10.51372/bioagro371.11>
- Hernández-Villalobos, K., & Chico-Ruiz, J. (2020). Inducción de brotes y raíces en hipocótilos y cotiledones de *Physalis peruviana* L. utilizando 6-bencilaminopurina y 2,4-diclorofenoxiacético. *Revista de Investigaciones Altoandinas-Journal of High Andean Research*, 22(1), 87–94. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.539>
- Jhajhra, S., Dashora, L. K., Singh, J., Bhatnagar, P., Kumar, A., & Arya, C. K. (2018). *In vitro* propagation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7(10), 3030-3035. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.353>
- Joshi, S., Nath, J., Bagri, J., Kumari, K., Roy, A., Yadav, S. K. et al. (2026). High- efficiency regeneration and transformation system in *Nardostachys jatamansi* for functional genomics and bioactive compounds enrichment. *Plant, Cell & Environment*, 49(2), 840-857. <https://doi.org/10.1111/pce.70263>
- Karmaker, S., Hossain, Md. M., Hoque, Md. A., Kaium, Md. A., Ali, T. B., & Ferdous, M. (2023). *In vitro* propagation of three strawberry varieties and field evaluation. *American Journal of Plant Sciences*, 14, 1214-1222. <https://doi.org/10.4236/ajps.2023.1411082>
- Kim, J., Yoo, C., Nguyen, C. D., Lee, M. B., Huo, H., & Lee, S. (2024). Optimization of shoot regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation in strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 150(1), 10-18. <https://doi.org/10.21273/JASHS05388-24>
- Landi, L., & Mezzetti, B. (2006). TDZ, auxin and genotype effects on leaf organogenesis in *Fragaria*. *Plant Cell Reports*, 25(4), 281–288. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0066-5>
- Li, X., Liu, L., Luo, C., Chen, Z., & Shu, B. (2026). Efficient CRISPR/Cas9 system established via co-cultivation of plantlets and *Agrobacterium tumefaciens* for positive transgenic calluses generation and regeneration in cultivated strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 232, 111195. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2026.111195>
- Li, Y., Huang, P., Qiu, X., Zhu, F., Chen, H., Wang, S. et al. (2025). Integration of green and far-red light with red-blue light enhances shoot multiplication in micropropagated strawberry. *Horticulturae*, 11, 701. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11060701>
- Lin, D., Yang, Y., Khalil, R., Xian, Z., Hu, G., & Li, Z. (2013). SlmiR393 controls the auxin receptor homologous genes expression and regulates sensitivity to auxin in tomato root growth. *Scientia Horticulturae*, 162, 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.028>
- Long, Y., Yang, Y., Pan, G., & Shen, Y. (2022). New Insights into Tissue Culture Plant-Regeneration Mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 13, 926752. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.926752>
- Lu, F., Li, Z., Liu, Y., Zhang, D., Liu, L., Li, D., et al. (2026). Establishment *in vitro* regeneration and *Agrobacterium*-mediated genetic transformation system for *Lilium longiflorum* ‘Sally’ stem segments. *Scientia Horticulturae*, 363, 114882. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2026.114882>
- Mamani-Sánchez, B., & Murillo-García, R. A. (2020). Micropropagación de dos variedades de frutilla (*Fragaria ananassa* Duch.) en diferentes medios de cultivo. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 7(1), 69–78.
- Martín, R., Chong-Pérez, B., & Pérez-Alonso, N. (2015). Organogénesis *in vitro* en el género *Digitalis*. *Biotechnología Vegetal*, 15(4), 105-206.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473–497. <http://dx.doi.org/10.1111/j1399-3054.1962.tb08052.x>
- Naing, A. H., Kim, S. H., Chung, M. Y., Park, S. K., & Kim, C. K. (2019). *In vitro* propagation method for production of morphologically and genetically stable plants of different strawberry cultivars. *Plants Methods*, 15, 36. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0421-0>
- Nalini, P., Rai, R., Srivastava, R., Arora, S., & Guru, S. K. (2021). An efficient protocol for *in vitro* propagation of strawberry cv. Chandler through shoot tip culture. *Progressive Horticulture*, 53(1). <https://doi.org/10.5958/2249-5258.2021.00004.X>
- Neri, J. C., Meléndez-Mori, J. B., Tejada-Alvarado, J. J., Vilca-Valqui, N. C., Huamán-Huamán, E., Oliva, M., & Goñas, M. (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>
- Omid, M., & Yadollahi, A. (2016). Factors affecting *in vitro* propagation efficiency of three genotype of *Rosa damascena*. *Journal of Biology and Nature*, 6, 78–87.
- Palei, S., Rout, G. R., Das, A. K., & Dash, D. K. (2017). Callus Induction and Indirect Regeneration of Strawberry (*Fragaria x Ananassa*) Duch. cv Chandler. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 1311–1318. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.157>
- Palei, S., Dighijaya, S., Suchismita, J., Ankita, M., Mahipal, S. K., Snehasish, R. et al. (2025). Optimization of *in vitro* regeneration protocol for *Fragaria x ananassa* Duch cv Chandler and assessment of genetic fidelity through ISSR markers. *Plant Science Today*, 12(3). <https://doi.org/10.14719/pst.6585>
- Ramirez, L. A., Moreno, J. E., & González, N. E. (2014). Evaluación del efecto de tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio

- sobre segmentos nodales de *Guadua angustifolia* Kunth para el establecimiento del cultivo *in vitro*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 5(1), 155-169. <https://doi.org/10.22490/21456453.944>
- Ramlal, A., Quan, P. W., Rajendran, A., & Subramaniam, S. (2025). Impact of biophysicochemical factors on micropropagation, haploidy and doubled haploidy in strawberry (*Fragaria* sp.): A critical revisit. *Current Plant Biology*, 44, 100555. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2025.100555>
- R Development Core Team. (2020). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Redhwan, A., Acemi, A., & Özen, F. (2026). *In vitro* propagation of *Fritillaria pontica* Wahlenb. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 164, 100. <https://doi.org/10.1007/s11240-026-03408-z>
- Sahu, P. K., Bandyopadhyay, S., & Gantait, S. (2026). Indirect organogenesis and genetic fidelity assessment of small potato (cultivar Badami alu). *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 29, 343-352. <https://doi.org/10.1007/s12892-025-00340-0>
- Sharma, T., Sharma, S., Chib, S., Kaul, S., & Dhar, M. K. (2026). Establishment of a platform for *Agrobacterium* mediated genetic transformation in *Plantago ovate* Forssk. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 164, 99. <https://doi.org/10.1007/s11240-026-03405-2>
- Silva, J. A. T., Winarto, B., Dobránszki, J., & Zeng, S. (2015). Disinfection procedures for *in vitro* propagation of *Anthurium*. *Folia Horticulturae*, 27(1), 3-14. <https://doi.org/10.1515/fhort-2015-0009>
- Ugur, R. (2020). Development of *in vitro* sterilization protocol for do-1 (*Prunus domestica*) rootstock. *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(2), 2339-2349. [https://doi.org/10.15666/aeer/1802\\_23392349](https://doi.org/10.15666/aeer/1802_23392349)
- Wang X., Tang, L., Fan, Y., Luo, X., & Zeng, D. (2017). Organogenesis Approaches in Tissue Culture of Stem Tips of Benihoppe Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 34(6), 40-44. <https://doi.org/10.16779/j.cnki.1003-5508.2017.06.010>