

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA  
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN  
INFORME FINAL DE PROYECTOS EXTENSIÓN**

**CÓDIGO Y TÍTULO DEL PROYECTO:**

**CÓDIGO 0000-0151-0167**

**ESTRATEGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA EL INCREMENTO DE LA PRODUCTIVIDAD EN CULTIVO DE FRESA DE LA ZONA NORTE DE CARTAGO”**

**1. AUTORES Y DIRECCIONES**

<b>Nombre y apellidos*</b>	<b>Instancia académica</b>	<b>Horas</b>	<b>Tipo</b>	<b>Periodo</b>
M.Sc Giovanni Garro Monge (CP)	Escuela de Biología	8	REC	01 de enero 2022 al 31 de diciembre 2022
MAP. Jaime Brenes Madriz	Escuela de Biología	8	REC	01 de enero 2022 al 31 de diciembre 2022
MSc. Karol Jiménez Quesada **	Escuela de Biología	10	Cons	01 de enero 2022 al 31 de diciembre 2022

\*\* La MSc. Karol Jiménez Quesada renunció al TEC desde el pasado 22 de junio del 2023.

**2. RESUMEN**

En nuestro país, según datos del FITTACORI (MAG, 2017) algunas de las principales limitantes en el cultivo de la fresa son los altos precios de las plantas, falta de un protocolo para tratar plagas y enfermedades; así como los altos costos de producción y gran dependencia de agroquímicos sintéticos y su impacto económico. A partir del 2014, un aumento de incidencia del problema fitosanitario en el cultivo de fresa, ha provocado que muchos pequeños productores dejen esta actividad, lo que se traduce en problemas económicos y sociales para estas familias y sus empleados (Román, 2022). De acuerdo con SEPSA (2017) se ha registrado una disminución de 30 hectáreas de fresa sembrada en el país con respecto al 2014, pasando de 181 ha en ese año a 151 ha en el 2016. Y para mayo de 2017 el problema es aún más serio, ya que se registró una reducción de 93 ha de cultivo lo que significa que solo quedan alrededor de 58 hectáreas de fresa en las principales regiones productoras. Lo que se ha convertido en un problema a nivel nacional por la escasez de fruta en el mercado (Barquero 2018).

Desde el 2019 uno de los factores que ha impactado enormemente el sector agrícola ha sido la pandemia generada por el COVID-19. En este sentido el MAG ha estimado que la afectación en el mercado agrícola ascenderá a los 18.395 millones de colones afectando a más de 6.885 productores y más de 266 empresas principalmente del sector exportador. Así, se nota una urgencia nacional por dar soporte al sector agrícola para lograr su tránsito por esta crisis e impulsar la reactivación económica (MAG 2017).

De esta forma las herramientas biotecnológicas como el cultivo de tejidos resultan de gran beneficio para la producción de material de alta calidad en diversos cultivos. Esto debido a su ventaja de producir vitroplantas limpias de patógenos, homogeneidad genética y eventual mayor resistencia o tolerancia a factores de estrés biótico o abiótico (Ruiz *et al* 2018). El cultivo de fresa se ha realizado sobre todo a partir de yemas axilares (Mamani-Sánchez 2020) que se encuentran nivel de los estolones producidos por las plantas, esto con el fin de bajar la carga microbiana de los géneros, *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*, presentes en estos cultivos (Ruiz *et al.* 2018). Las plantas micropropagadas se ha encontrado que muestran mayor cantidad de flores, mayor rendimiento de frutos por hectárea, más estolones por planta y mayor vigor, en comparación con las plantas propagadas convencionalmente, según lo reportado por Jami 2018.

En este proyecto se logró la implementación de protocolos para la desinfección eficiente de explantes de variedades fresa provenientes de estolones de plantas, su introducción *in vitro*, cultivo y micropropagación. Estas actividades se realizaron en atención de las solicitudes de un grupo de productores de fresa de la zona norte de Cartago con los cuales se realizaron además otras actividades de integración y capacitación con el fin de generar herramientas que les permita el incremento de la productividad del cultivo de la fresa.

### **3. ESTRATEGIA DE ABORDAJE**

Durante este proyecto se generó la siguiente estrategia:

3.1 Acercamiento inicial con pequeños y grandes productores que estuvieran involucrados en la producción de fresa en la zona norte de Cartago:

Para esto se realizaron visitas a fincas de los productores, así como reuniones con ellos en el centro de Investigación, CIB. De esta forma, en conjunto con ellos se logró trazar un mapa de ruta con respecto a las necesidades expresadas por los productores en cuanto a material vegetal de alta calidad, sano y altamente productor, así como la urgencia de avanzar en la adopción de bioinsumos como parte de las prácticas agrícolas de la zona. Por tanto, este proyecto representa el punto de partida de trabajo en la implementación de las condiciones básicas necesarias para la introducción *in vitro* de materiales de fresa de la zona norte de Cartago. Así mismo la capacitación en el manejo de estos materiales a nivel de invernadero y en conjunto con la aplicación de microorganismos beneficiosos.

3.2 Se coordinó la colecta de material con los proveedores para lo cual en cada ocasión se recogió el material directamente en las fincas de los productores y se trasladó al laboratorio.

3.3 Posteriormente el material se trasladó al laboratorio del CIB y se realizaron los ensayos para la desinfección, introducción *in vitro* y multiplicación de material.

3.4 Una vez desarrolladas las plantas se coordinó con los productores y se realizó una reunión en los laboratorios del CIB para mostrar los materiales *in vitro* y posteriormente se coordinó la entrega en las fincas de ellos, realizando además la respectiva capacitación para el manejo y aclimatación de las vitroplantas en condiciones de invernadero, así como la aplicación de los bioinsumos.

3.5 Para la difusión de los resultados y la transferencia de los materiales se coordinó con los productores y con la Oficina de Comunicación y Mercadeo para la respectiva visita y elaboración de la nota según se muestra en el anexo 3.

### **3.6 . MATERIALES Y MÉTODOS**

**Material Vegetal.** Se utilizaron estolones de plantas cultivadas en condiciones de invernadero de las variedades San Andreas y Festival provenientes de las fincas de productores de Llano Grande de

Cartago. Los estolones fueron desinfectados con alcohol de 70% en el momento de la colecta y transportados en hielera hasta el Laboratorio de Cultivos Vegetales del CIB donde fueron reducidos en segmentos de entre 1 y 2 cm conteniendo brotes axilares o apicales, los cuales fueron utilizados como explantes.

#### **Desinfección.**

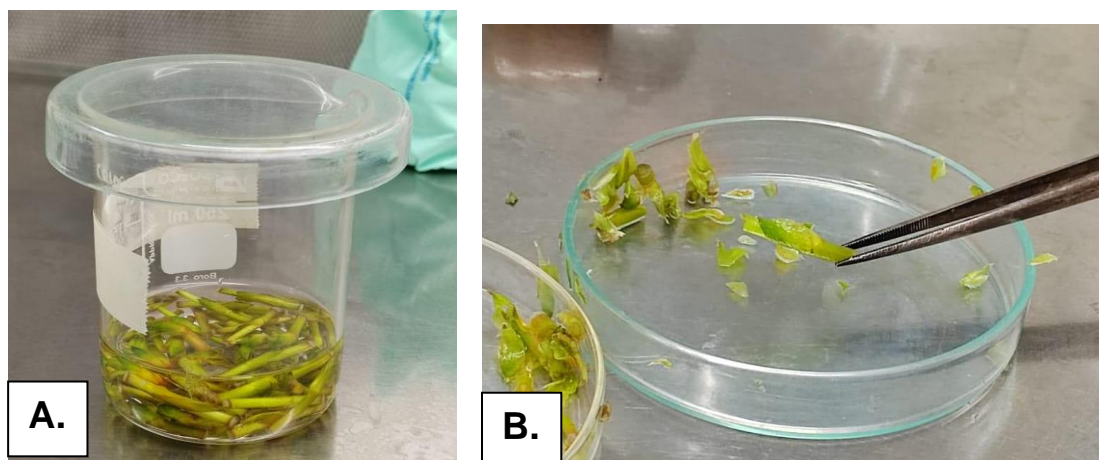
Para la implementación del protocolo de desinfección se realizaron 18 tratamientos (Tabla 1). La especificación de cada uno se describe en el anexo 1. De estos el tratamiento 16, fue el que presentó los mejores resultados. En este, los explantes de cada variedad fueron lavados con agua, jabón antibacterial y un cepillo de dientes para poder limpiar entre los tricomas de los tallos. Para la desinfección se utilizaron 4 g/L de Benomil® Zetaran®, y Agrimicin® por 1hr en bomba de vacío, seguido de 3 lavados con agua destilada. Se continuó con dos tratamientos de Hipoclorito de calcio, primero al 3% m/v 65% i.a. fuera de cámara y luego 1% m/v 65% i.a. dentro de cámara, seguidos cada uno por 3 lavados con agua destilada estéril. Por último, los explantes se trataron con una solución de antioxidantes compuesta de ácido ascórbico y ácido cítrico 500 mg/L de cada uno, para luego ser plantados en medio de cultivo.

**Introducción *in vitro*.** Para la introducción *in vitro* se utilizó el medio base MS suplementado con los reguladores de crecimiento, BAP y AIB, 3% m/v sacarosa, a un pH 5.7. Se realizaron un par de modificaciones (3.0 mg/L BAP / 2.0 mg/L AIB y 2.0 mg/L BAP / 1.0 mg/L AIB) en cuanto a la concentración de los reguladores para lograr una mejor respuesta de morfogénesis.

## **4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 Componente C1.a1. Protocolo de desinfección**

Se evaluaron 18 tratamientos (Tabla 1) con variaciones en tiempos y productos de desinfección utilizados. El tratamiento 16 fue el que generó los mejores resultados de sobrevivencia de explantes posterior a la desinfección fue el que usó explantes correspondientes a segmentos de tallo (estolones) de aproximadamente 1-2 cm de largo que incluyeran yemas laterales o apicales.



**Fig. 1.** **A.** Explantes de estolones de fresa en solución con fungicidas. **B.** Explantes de estolones de fresa en cámara de flujo laminar listos para introducir a condiciones de cultivo *in vitro*.

**Tabla 1.** Tratamientos de desinfección implementados para la introducción *in vitro* de variedades de Fresa. \*\*

<b>Tratamiento de desinfección de explantes de Fresa. Variedades San Andreas y Festival</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>Explantes Totales</b>	<b>Explantes Descartados</b>	<b>Sobrevivientes %</b>
1	38	37	3%
2	138	138	0%
3	83	83	0%
4	98	98	0%
5	103	103	0%
6	76	76	0%
7	97	97	0%
8	53	53	0%
9	44	44	0%
10	58	58	0%
12	27	25	7%
13	22	22	0%
14	38	37	3%
15	47	41	13%
16	41	24	41%
17	45	29	36%
18,1	31	29	6%

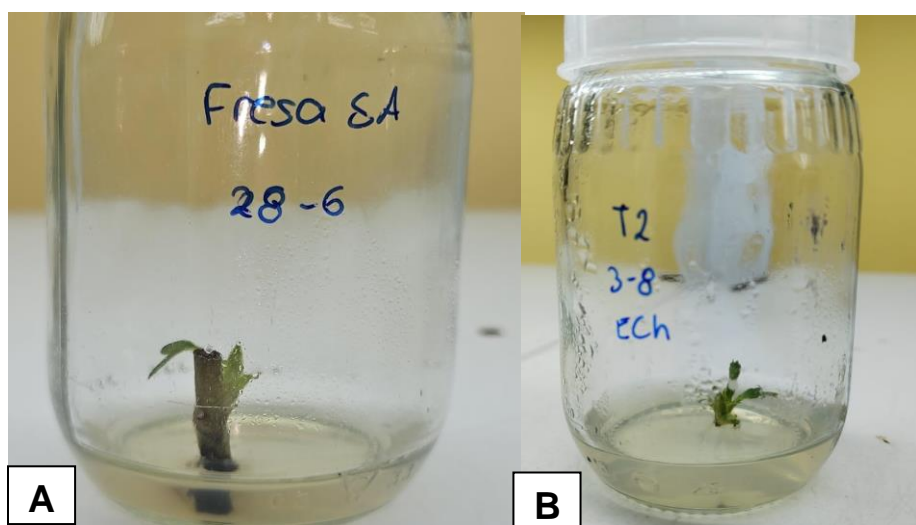
\*\* La Tabla con los datos crudos de las concentraciones de cada uno de los tratamientos se adjunta en el **Anexo 1**.

Estos tratamientos se realizaron para dos variedades distintas: Festival y San Andreas, sin embargo, la variedad Festival no logró resultados positivos de sobrevivencia desde el inicio del proyecto por lo cual no se siguió trabajando con ella. En la figura 1 (A y B), se muestran imágenes de parte del proceso de desinfección e introducción *in vitro* de los explantes.

#### **4.1 Componente C1. A2. Implementación de un protocolo de cultivo *in vitro* de explantes de Fresa**

Para la implementación del cultivo *in vitro* de explantes de estolones de fresa, se utilizó un medio de cultivo MS 100% (Murashige & Skoog 1962), suplementado con 3% p/p sacarosa, 2 mg/L BAP, 1 mg/L AIB a un pH 5.7. Los resultados de la aplicación de este medio y la respuesta de los explantes se muestran en la Fig. 2. A y b. Cabe destacar que en este caso y según lo reportado por Ruiz (2018); Ñahuinlla, M. (2018) y Mamani-Sánchez, B. & Murillo-García, R. (2020), las plantas generadas a

partir de estos explantes de brotes axilares de estolones generaron muy buena respuesta de producción de brotes en las dos primeras semanas posterior a su introducción.

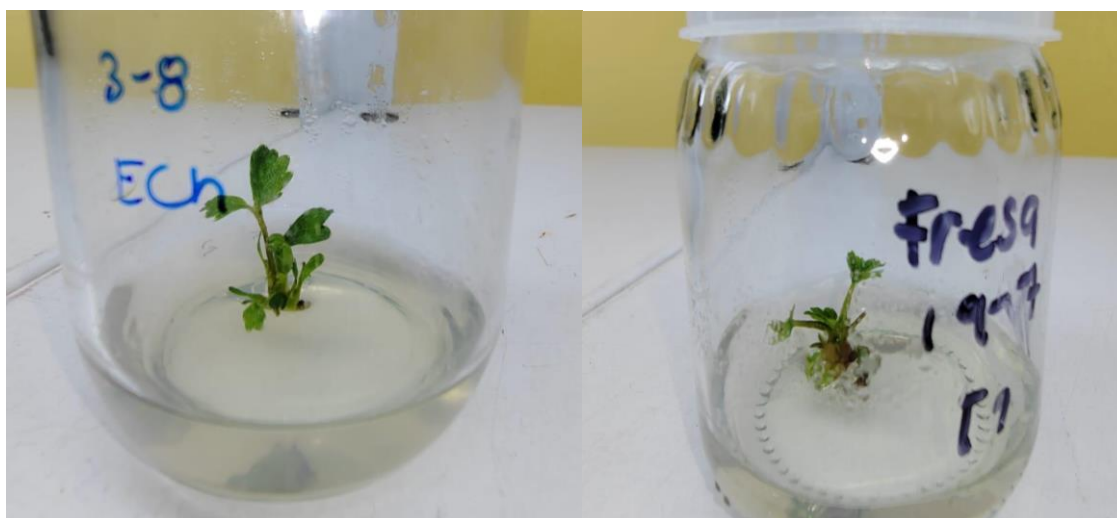


**Figura. 2.** A. Explante mostrando el brote entre los 15-20 días de cultivo inicial. B. Explante mostrando el brote a los 30 días de subcultivo *in vitro*

#### 4.2 C2.a1. Establecimiento del protocolo de multiplicación *in vitro* de plantas fresa

Por otro lado, el medio de multiplicación y subcultivo que fue seleccionado con resultados positivos, corresponde a un MS 100% con 3% m/v sacarosa, 2 mg/L BAP, 3 mg/L AG3, 2 mg/L Pantotenato de Calcio a un pH 5.7. El gelificante utilizado para ambos medios fue Gellan Gum 3,3 g/L. Las plantas generadas en esta fase se muestran en las fig.3.

En este caso la utilización del regulador AG3 en combinación con el BAP favoreció la elongación de los brotes iniciales y la formación de mayor área foliar lo cual permite un mayor desarrollo general de la vitroplanta.

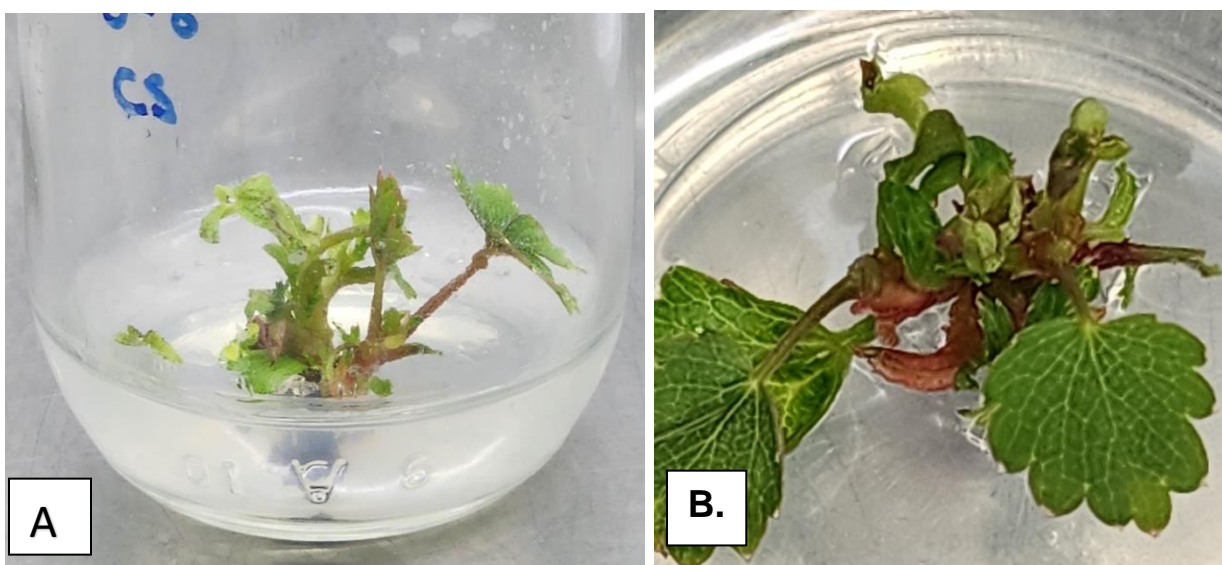


**Figura. 3.** Vitroplantas de fresa a los 45 días de introducción en cultivo *in vitro*

### 4.3 C2.a2. Optimización de protocolos para multiplicación masiva de plantas de fresa

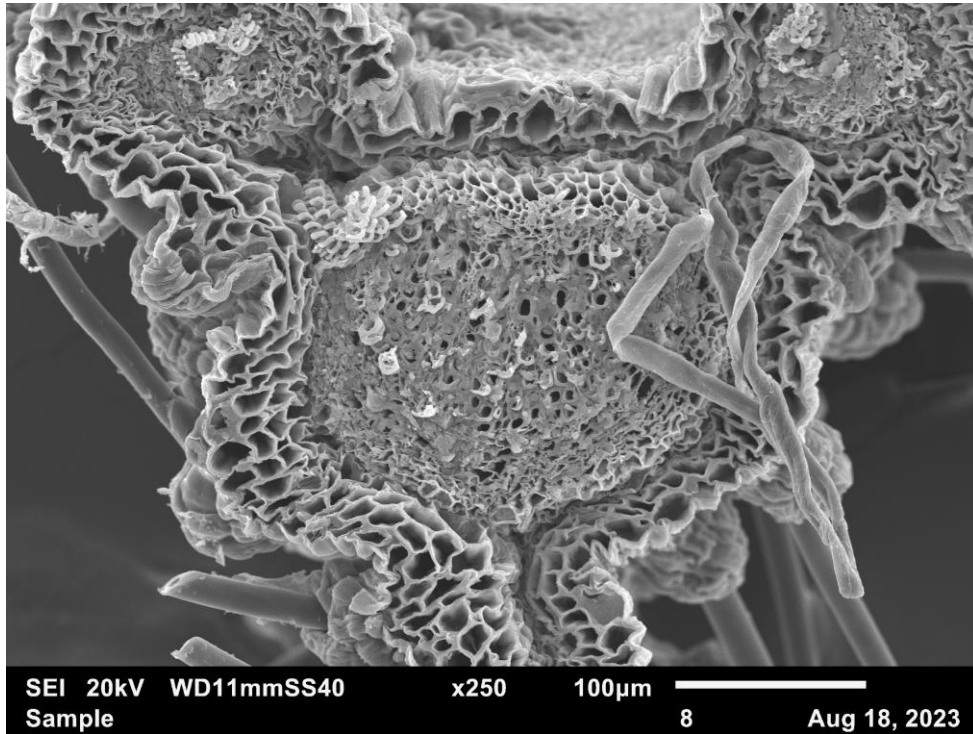
La optimización del protocolo para multiplicación masiva se llevó a cabo a partir del medio básico M &S utilizado para la multiplicación con la adición de extracto de malta (300 mg/L) y caseína hidrolizada (200 mg/L).

A partir de esto se han logrado generar “clusters” de vitro plantas con buen vigor y mostrando gran cantidad de brotes en tasa de 15-20 plantas por cluster, según se muestra en la Fig.4. a y b. Dentro de este proceso de optimización del protocolo de multiplicación y como parámetro de calidad de los materiales que fueron entregados a los productores, se realizaron cortes en tallos de plantas *in vitro* seleccionadas al azar y se observaron en microscopio electrónico SEM. Esto con el objeto de descartar la presencia de microorganismos a nivel de los tejidos vasculares de estas plantas como se muestra en la figura .I De esta forma se pudo comprobar la “sanidad” de los materiales con la ausencia de microorganismos en los haces vasculares de las plantas seleccionadas.

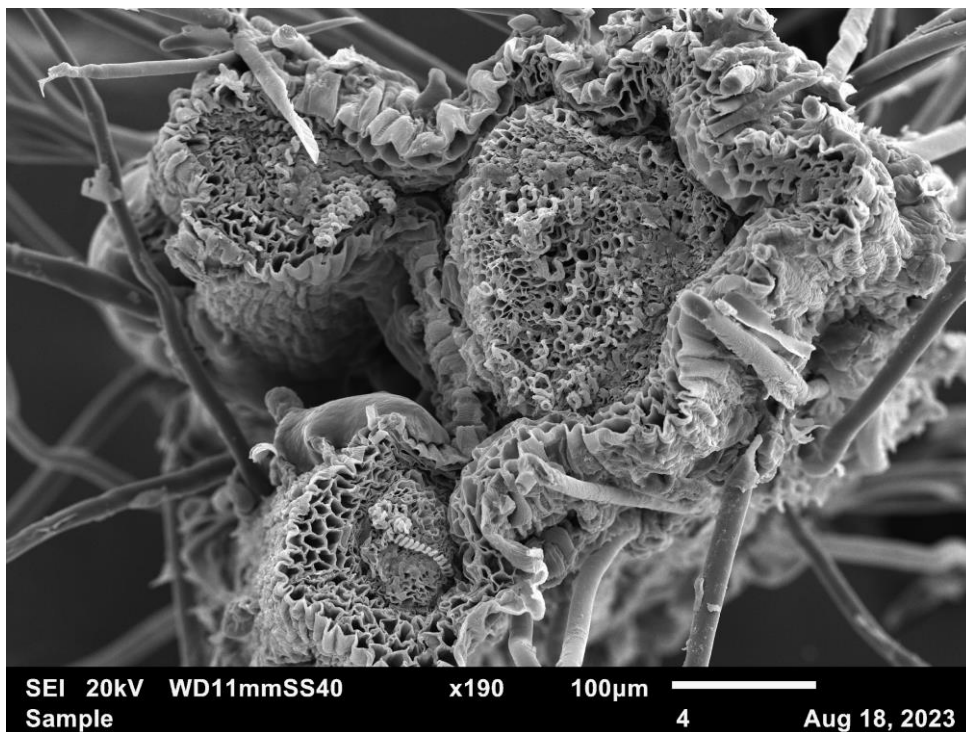


**Figura 4.** A y B. “Clusters” de vitroplantas de fresa generadas a partir de explantes de estolones con 10 semanas de introducción al cultivo *in vitro*

Dentro de este proceso de optimización del protocolo de multiplicación y como parámetro de calidad de los materiales que fueron entregados a los productores, se realizaron cortes en tallos de plantas *in vitro* seleccionadas al azar y se observaron en microscopio electrónico SEM. Esto con el objeto de descartar la presencia de microorganismos a nivel de los tejidos vasculares de estas plantas como se muestra en la figura 5 y 6. De esta forma se pudo comprobar la “sanidad” de los materiales con la ausencia de microorganismos en los haces vasculares de las plantas seleccionadas.



**Figura 5.** Haces vasculares de tallos de plantas de fresa en corte transversal sin presencia de microorganismos. Fotografías y procesamiento del material realizado por cortesía del Dr. Luis Fernando Alvarado, CIB.



**Figura 6.** Haces vasculares de tallos de plantas de fresa en corte transversal sin presencia de microorganismos y mostrando gran cantidad de tricomas en su superficie externa. Fotografías y procesamiento del material realizado por cortesía del Dr. Luis Fernando Alvarado, CIB.

#### 4.4 C3.a1. Selección y organización del grupo de agricultores a capacitar.

La selección del grupo de productores de fresa se dio a partir de un contacto inicial desde finales del 2021 con uno de los productores quien nos manifestó su interés de interactuar con el CIB y buscar oportunidades de apoyo técnico en la mejora de sus cultivos. A partir de eso se logró interactuar con un grupo de cerca de 15 productores pequeños y medianos de la zona de llano grande. Se realizó un primer acercamiento con una reunión en el CIB en la cual se convocó también a la extensionista del MAG de la zona, Ing. Miriam Zúñiga quien colaboró como enlace inicial de la parte técnica y necesidades de los productores. A partir de acá se pudo contar con un grupo de cerca de 6 productores que manifestaron mayor interés en recibir el apoyo técnico y la capacitación planteadas en el proyecto. En este sentido se trabajó muy de cerca con los productores Minor Fernández y Carlos Pontigo quienes fueron los principales proveedores de material vegetal para los ensayos de cultivo *in vitro*.

#### 4.5 C3.a2. Organización de los contenidos de la capacitación

Posteriormente por solicitud de los productores se realizó una pequeña capacitación sobre propiedad intelectual y derechos de obtentor de semillas impartida con la colaboración del Lic. José Pablo Bonilla de la Oficina de Vinculación Universidad Empresa del TEC. (Ver Anexo 1). Posteriormente se realizaron varias visitas a los productores y se plantearon los objetivos de la presente propuesta. Posteriormente dentro del marco del acercamiento e interacción con el sector Fresero de Llano Grande se organizó un encuentro de Productores de la Zona norte en conjunto con la Alcaldía de la Municipalidad de Cartago (Anexo 3). En este encuentro se articuló con la Dirección de extensión del TEC, lo directores regionales del MAG, La Corporación Hortícola y el INDER. Posteriormente se dio seguimiento a las actividades propias del proyecto y se realizó una entrega de material en la cual participaron tres productores a los cuales se les transfirió un lote de 200 vitroplantas a cada y ese mismo día se les dio la capacitación para su manejo y aclimatación en condiciones de invernadero. **Fig. 7, 8y 9.** (Ver anexo 2)



**Figura 7.** Entrega de vitroplantas de fresa a productores de llano grande, Cartago.





Figura 8. Productor de fresa de llano grande sostiene vitroplantas del proyecto.



Figura 9. Capacitación de productores en manejo de vitroplantas en condiciones de invernadero

## 5 Logro del propósito y los componentes

Propósito: Mejora de la productividad de cultivos de alta importancia para la reactivación económica del sector hortícola de la zona norte de Cartago, mediante la implementación de estrategias biotecnológicas.			
Componentes	Indicador	% de logro	Comentarios
C1.a1. Establecimiento del protocolo de desinfección e introducción <i>in vitro</i> de explantes de fresa	Protocolo de desinfección e introducción <i>in vitro</i>	100	A partir de la implementación de varios ensayos de desinfección en explantes de estolones, se logró un protocolo eficiente para la desinfección de explantes de fresa provenientes de campo. Los ensayos de desinfección lograron porcentajes muy bajos, entre 5 y 10% de sobrevivencia dada la alta carga microbiana observada en las plantas de campo.
C1.a2. Establecimiento del protocolo de cultivo <i>in vitro</i> de fresa.	Plantas introducidas y establecidas	100	Se ensayaron varios medios de cultivo basados en el medio clásico M&S con diversas modificaciones, logrando el establecimiento de un protocolo eficiente para el cultivo <i>in vitro</i> de explantes de fresa.
C2.a1. Establecimiento del protocolo de multiplicación de vitro plantas fresa	Protocolo de multiplicación efectivo, así como las plantas <i>in vitro</i> multiplicadas	100	Se obtuvieron resultados eficientes para la multiplicación <i>in vitro</i> de plantas de fresa
C2.a2. Optimización de protocolos para multiplicación masiva de plantas de fresa	Protocolo de multiplicación optimizado, así como las plantas <i>in vitro</i> micropropagadas	100	Se obtuvieron resultados eficientes para la multiplicación <i>in vitro</i> de plantas de fresa
C3.a1. Selección y organización del grupo de agricultores a capacitar.	Agricultores seleccionados y capacitados	80	Se logró la integración de un grupo de 4 agricultores
C3.a2. Organización de los contenidos de la capacitación.	Capacitaciones efectuadas Agricultores capacitados Plantas entregadas	80	Se logró capacitar a 4 productores con las técnicas de uso de bioinsumos y aclimatación de vitroplantas en invernadero

6 Integración de la academia:

Nombre del estudiante	Carrera	Actividades realizadas
María Valeria Gonzalez	Ing en Biotecnología	Práctica Profesional de Bach Ing. En Biotecnologia
Estefanía Chavarría	Ing en Biotecnología	Asistente de investigación
Camila Sigaran	Ing en Biotecnología	Asistente de investigación

7 Cumplimiento del plan de difusión

Nombre de obra	Tipo de obra	Estado (aceptado por publicar y publicado)	Base de datos de indexación	Nombre de Evento	Contó con Comité científico (Si ó NO)
<a href="https://www.tec.ac.cr/hoyenltec/2022/11/17/productores-agropecuarios-investigadores-autoridades-cartago-se-reunen-propiciar">https://www.tec.ac.cr/hoyenltec/2022/11/17/productores-agropecuarios-investigadores-autoridades-cartago-se-reunen-propiciar</a> ANEXO 2	Comunicado de prensa	Publicado	No	Artículo de prensa	NO
<a href="https://www.tec.ac.cr/hoyenltec/2023/07/17/productores-fresa-mejoran-su-cultivo-gracias-apoyo-tec">https://www.tec.ac.cr/hoyenltec/2023/07/17/productores-fresa-mejoran-su-cultivo-gracias-apoyo-tec</a> ANEXO 3	Comunicado de prensa	Publicado	No	Artículo de prensa	NO
<a href="https://www.youtube.com/watch?v=kWKLQ-2fpto">https://www.youtube.com/watch?v=kWKLQ-2fpto</a> ANEXO 3	Comunicado de prensa	Publicado	No	Artículo de prensa	NO
<a href="https://youtu.be/fO-bMkauhjs">https://youtu.be/fO-bMkauhjs</a> ANEXO 3	Comunicado de prensa	Publicado	No	Artículo de prensa	NO
<a href="https://www.panoramadigital.co.cr/enlace-tec-apoyo-a-freseros-de-cartago/">https://www.panoramadigital.co.cr/enlace-tec-apoyo-a-freseros-de-cartago/</a> ANEXO 4	Comunicado de prensa	Publicado	No	Nota de Radio e Internet	No

## 8 Ejecución Presupuestaria:

Partida específica	Monto solicitado	Monto ejecutado	Porcentaje ejecución	Justificación
1-05-02-01	50000	0	0	No se requirió pues se utilizó carro propio para la colecta de material
2-01-01-01	50000	0	0	No se requirió pues se utilizó carro propio para la colecta de material
2-02-02-01	50.000	0	0	Se planificó con el objeto de retribuir la compra de material vegetal, sin embargo, se logró que los productores lo donaran.
2-03-06-01	350.000	274.000	78,31	No se logró ubicar un proveedor para un producto plástico requerido
2-04-01-01	100.000	0	0	No se requirió la compra de herramientas
2-99-02-01	200.000	120.000	60	No se logró la ejecución completa de la partida

CFCodigo	Objeto Gasto	Descripción	Presupuesto Ordinario	Modificaciones	Total Presupuesto	(Ejecución efectiva + Pagos en Tránsito)	Compromisos	Precompromisos	Disponible	%Ejecución
1510167	1-05-02-01	Viáticos dentro del país	0.00	50.000.00	50.000.00	0.00	0.00	0.00	50.000.00	0.00
1510167	2-01-01-01	Combustibles y lubricantes	0.00	50.000.00	50.000.00	0.00	0.00	0.00	50.000.00	0.00
1510167	2-01-99-01	Otros productos químicos y conexos	0.00	150.000.00	150.000.00	150.000.00	0.00	0.00	0.00	100.00
1510167	2-02-02-01	Productos agroforestales	0.00	50.000.00	50.000.00	0.00	0.00	0.00	50.000.00	0.00
1510167	2-03-06-01	Materiales y productos de plástico	0.00	350.000.00	350.000.00	274.099.00	0.00	0.00	75.901.00	78.31
1510167	2-04-01-01	Herramientas e Instrumentos	0.00	100.000.00	100.000.00	0.00	0.00	0.00	100.000.00	0.00
1510167	2-99-02-01	Útiles y materiales médicos - hospitalario y de investigación	0.00	200.000.00	200.000.00	120.000.00	0.00	0.00	80.000.00	60.00
1510167	2-99-99-01	Otros útiles - materiales y suministros diversos	0.00	50.000.00	50.000.00	50.000.00	0.00	0.00	0.00	100.00
			0.00	1,000,000.00	1,000,000.00	594,099.00	0.00	0.00	405,901.00	59.40

## 9 Limitaciones y problemas encontrados

Durante el presente proyecto la principal limitante consistió en la alta carga microbiana encontrada en los explantes colectados a nivel de campo. Si bien es cierto se realizaron labores que permitieran bajar esta carga microbiana, algunos de los ensayos tuvieron que ser muy invasivos lo cual insidió en el deterioro y la muerte del material vegetal. Esto conllevó a un gran número de introducciones de material vegetal al laboratorio hasta lograr la sobrevivencia mínima de los materiales. Por otro lado, hubo que lidiar con las condiciones de asepsia de los cuartos de crecimiento en los cuales se sigue manteniendo cierta contaminación interna que afecta

notablemente el desarrollo de los proyectos por el gasto de insumos y tiempo de personal requeridos en la recuperación de los materiales vegetales.

#### 10 Observaciones generales y recomendaciones

Dentro de las observaciones generales se debe destacar la importancia de generar ideas y proyectos que den un apoyo decidido a la reactivación económica, favorezcan la adquisición de tecnología de punta y permitan el mayor encadenamiento en los sectores socio productivos más cercanos a los campus del TEC.

Para esto se debe invertir tiempo y esfuerzos en generar los acercamientos con los diversos sectores de la sociedad que nos garanticen la pertinencia de la investigación y la extensión que se realiza en la institución. Este proyecto es un buen ejemplo de esa articulación academia sector socio productivo que permitan abordar problemas técnicos y marquen una ruta de trabajo conjunto. Las visitas al entorno externo, al campo, la industria, los pueblos. El conocimiento de los actores y sus necesidades nos dan una lectura más detallada y real de las necesidades y posibles respuestas a los diversos problemas de nuestra sociedad en la cual la Universidad tiene un rol muy importante para el impulso de su desarrollo y bienestar. Hay otros actores institucionales que pueden colaborar a dibujar mejor el paisaje o entorno para la extensión. Se deben realizar esfuerzos para interactuar con ellos en pro de buscar en conjunto las soluciones mas acertadas y eficientes para resolver los distintos problemas de nuestra sociedad.

#### 11 Agradecimientos

Se agradece el aporte de financiamiento de la Vicerrectoria de Investigación y Extensión del Tec para contar con los recursos de gastos operativos y horas de los investigadores. Además, se agradece el aporte en material vegetal de los productores Minor Fernández de la empresa Fresas de Altura y al señor Carlos Pontigo de Berries de Costa Rica. También se agradece el amable apoyo del Dr. Luis Fernando Alvarado, investigador del CIB, en la preparación de muestras y visualización en SEM para tejidos vasculares en tallos de plantas *in vitro* de fresa.

#### 12 Referencias

- Barquero, J., Meneses, R., Barrantes, L., Ugalde, P., Villalobos, N., Serrano, D. (2018). Agrocadena de Fresa. Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, Dirección Regional Central Occidental. Grecia, Alajuela, Costa Rica. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/E70-9555.pdf>.
- SEPSA. (marzo de 2017). [sepsa.go.cr](http://www.sepsa.go.cr). Obtenido de [http://www.sepsa.go.cr/docs/2018-007-Desempenno\\_SectorAgro\\_2017.pdf](http://www.sepsa.go.cr/docs/2018-007-Desempenno_SectorAgro_2017.pdf).
- Guevara, K. (2019). Rendimiento de semila de fresa (*Fragaria x ananassa*) de las variedades Festival, Albión y Oso Grande bajo cuatro tratamientos de vernalización. [Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica]. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/16299>
- MAG (2017). Manual de buenas prácticas agrícolas y de producción para el cultivo de la fresa.IICA. <https://repositorio.iica.int/handle/11324/2932>

- Jami, A. (2018). Establecimiento *in vitro* de fresa *Fragaria* × ananassa (*Duchesne ex Weston*) *Duchesne ex Rozier* a partir de meristemos. [Tesis de Licenciatura, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano ]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/38a1229f-2ed5-486c-8ec0-c71c10a491c1/content>
- Mamani-Sánchez, B. & Murillo-García, R. (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. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2409-16182020000100010](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182020000100010)
- Ñahuinlla, M. (2018). Optimización del protocolo de micropropagación *in vitro* con cuatro cultivares de fresa (*Fragaria* x ananassa Duch.) [Tesis de Ingeniero Agronomo, Universidad Nacional Agraria La Molina]. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3102/%c3%b1ahuinlla-arone-monica-enderalencia.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Román, Y. (2022). Estrategias de competitividad a través de la diferenciación para agronegocios de fresa ubicados en las zonas aledañas al Volcán Poás. [Tesis de Licenciatura en Economía, Universidad Nacional de Costa Rica]. <http://repository.pedagogica.edu.co/handle/20.500.12209/10745>.  
<https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/22967/Estrategias%20de%20competitividad%20a%20trav%C3%A9s%20de%20la%20diferenciaci%C3%B3n%20para%20agronegocios%20de%20Fresa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Ruiz, T., Adriano, J., Carillo, T., Parra, R., Ojeda, D. & Hernández, A. (2018). Establecimiento *in vitro* de dos cultivares liberados de frutillas: fresa y frambuesa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(4), 799-812. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342018000400799](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342018000400799)

### 13 Apéndices

**Anexo 1.** Cuadro del detalle de los 18 tratamientos realizados para la desinfección de los materiales previo a la introducción *in vitro*.

**Anexo 2.** Material de Conferencia sobre Propiedad Intelectual impartida por Pablo Roberto Bonilla. Oficina de Vinculación y enlace Universidad-Empresa.

**Anexo 3.** Nota de Hoy en el TEC sobre: Encuentro de Productores de la Zona norte en conjunto con la Alcaldía de la Municipalidad de Cartago. Oficina de Comunicación y Mercadeo.

**Anexo 4.** Nota de Hoy en el Tec sobre: Productores mejoran cultivos gracias al TEC. Material de difusión del proyecto, Oficina de Comunicación y Mercadeo.

**Anexo 5.** Nota de Prensa de programa Enlace TEC, Panorama.