



Kurú: Revista Forestal (Costa Rica) 2(5), 2005

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Micropropagación de teca (*Tectona grandis* L.f)

Ana Abdelnour¹
Anabelle Muñoz¹

Resumen

La teca (*Tectona grandis* L.f.) es una especie considerada valiosa por la calidad de su madera. La alta demanda a nivel mundial ha impulsado su cultivo en plantaciones comerciales. Sin embargo, la calidad de muchas de estas plantaciones justificó el inicio de programas de mejoramiento de la especie. La introducción de técnicas de micropropagación o propagación clonal *in vitro* (en condiciones de laboratorio) en los programas de mejoramiento genético y para el establecimiento de plantaciones confiere grandes ventajas a los mejoradores, les permite la multiplicación masiva de los árboles superiores en tiempo y espacio reducido, conservando las características valiosas de los materiales. Además, este tipo de propagación permite la comercialización y transporte de las plantas así producidas a lugares y países lejanos con menores restricciones aduaneras y menores posibilidades de pérdida de materiales. Durante este estudio se mostró la factibilidad de propagar teca utilizando la micropropagación, estableciéndose una metodología básica que permitió la obtención de altos porcentajes de éxito en las diferentes etapas del proceso.

Palabras clave: Propagación clonal, Micropropagación, Cultivo *in vitro*, Propagación vegetativa, *Tectona grandis*.

Abstract

Micropropagation of teak (*Tectona grandis* L.f.). Teak (*Tectona grandis* L.f.) is considered valuable due to the quality of its wood. The world level demand for the wood supported the establishment of commercial plantations. However, the quality of such plantations motivated the beginning of improvement programs for this tree species. The introduction of micropropagation or *in vitro* clonal propagation techniques (under laboratory conditions) in breeding programs and in the establishment of commercial plantations, offers numerous advantages, it allows the mass propagation of superior trees in a reduced time and space, making possible the conservation of the valuable genetic characteristics of these materials. Furthermore, this type of propagation allows the commercialisation and transportation of produced plants to far away places and countries with few customs restrictions and lower possibilities of material losses. During this study the possibility to propagate teak using micropropagation was demonstrated, and a basic methodology that permitted high percentages of successes in each step of the process was developed.

Key words: Clonal propagation, Micropropagation, *In vitro* culture, Vegetative propagation, *Tectona grandis*.

¹ Instituto Tecnológico de Costa Rica, aabdelnour@itcr.ac.cr, anabellem2000@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La teca (*Tectona grandis* L.f.) pertenece a la familia Verbenaceae y es originaria del sureste asiático. Su madera es altamente valorada por sus características tecnológicas y belleza, considerándose de primera clase. Combina cualidades como dureza, durabilidad y resistencia al ataque de termitas. Se utiliza para la construcción de puentes, marinas, yates, muebles, carpintería en general, enchapados y contraenchapados, madera para parquet, postes y duela utilizados en la fabricación de barriles (Chávez y Fonseca, 1991; Mascareñas *et al.*, 1993).

Debido a que la demanda de teca a nivel mundial es mayor que los recursos disponibles, muchos países se inclinaron por introducir esta especie en los programas de reforestación. La propagación de teca se realiza tradicionalmente por semilla y la siembra a gran escala se mantiene por esta vía, muchas veces sin conocer las características o procedencia del material a plantar, lo que ha resultado en muchos casos, en plantaciones de baja calidad.

En Costa Rica, la teca es una de las principales especies en los programas de reforestación y de la superficie dedicada a plantaciones forestales (165 962 ha), alrededor de 25 600 ha son dedicadas a teca (Estado de la Nación, 2000; Arce y Moya, 2001). Sin embargo, la calidad de las plantaciones justifica el desarrollo de programas agresivos de mejoramiento. Se han establecido rodales semilleros para abastecer la demanda de semilla (Murillo *et al.*, 2001), pero la variabilidad encontrada entre los árboles propagados por esta vía, impulsó el desarrollo de programas de propagación clonal a partir de árboles seleccionados. La propagación vegetativa resulta en mayores retornos por ganancias en la calidad y la uniformidad de las plantaciones (Monteuuis *et al.*, 1998). La inclusión de técnicas de micropropagación o cultivo *in vitro* en los programas de mejoramiento genético y establecimiento de plantaciones, permite la clonación masiva de los árboles superiores en tiempo y espacio reducido, conservando las características valiosas de los materiales. Además, permite la comercialización y transporte de las plantas así producidas a lugares y países lejanos con menores restricciones aduaneras y menores posibilidades de pérdida de materiales (Engelmann y Takagi, 2000).

Algunas experiencias en la micropropagación de teca (Daquinta *et al.*, 2001; Monteuuis *et al.*; 1998, Rathore *et al.*; 1993), han mostrado la factibilidad de la técnica para la propagación masiva, por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar la técnica de micropropagación utilizando materiales de teca provenientes de plantaciones de Costa Rica.

Se anexan fotografías que ilustran los diferentes procesos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización de la investigación

La investigación de laboratorio se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos del Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica en Cartago, Costa Rica. Las pruebas de enraizamiento y aclimatación se realizaron en Cartago y en la finca de la empresa Precious Woods of Costa Rica (MACORI) en Playa Garza, Guanacaste, Costa Rica.

Material experimental

El material experimental o explante a introducir al cultivo *in vitro*, consistió de brotes y nudos tomados de estacas enraizadas y mantenidas en condiciones de invernadero en el Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica (estacas de brotes



tiernos) y estacas tomadas de árboles creciendo en campo (estacas semi-leñosas); todos los materiales provenientes de árboles de la empresa MACORI.

Desinfección de explantes

Las estacas mantenidas en invernadero fueron asperjadas semanalmente con una mezcla de Agrimicin® y Benlate® (estreptomina y benomil, respectivamente) 1 g/l de cada uno, para asegurar una mayor sanidad de los materiales.

Para la desinfección y el establecimiento *in vitro*, los explantes fueron lavados con agua y detergente con ayuda de un cepillo suave, para luego enjuagarlos con abundante agua. Se evaluaron varias metodologías de desinfección y varios desinfectantes dependiendo del tipo de explante a introducir al cultivo aséptico.

Para los explantes provenientes de estacas mantenidas en invernadero (material más tierno) se utilizó hipoclorito de calcio ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) (6% y 8% de producto comercial con 67% i.a.), hipoclorito de sodio (NaOCl) (60% de producto comercial con 4% i.a.), Agrimicin® (1 a 1,5 g/l) y Benlate® (1 a 1,5 g/l). Algunos tratamientos incluyeron la incubación en bomba de vacío y la agitación en un agitador orbital. Para la desinfección de los explantes provenientes de árboles de campo (semi-leñoso) se utilizaron los desinfectantes antes mencionados y el cloruro de mercurio ($(\text{HgCl})_2$) (0,5 a 1,5 g/l).

En general, los tiempos de incubación en los diferentes productos desinfectantes variaron dependiendo del tipo de explante y producto (5 a 90 minutos). Para finalizar la desinfección, los explantes se enjuagaron 3 veces con agua destilada estéril. Para los explantes provenientes de campo, algunos tratamientos incluyeron la adición de 100 ml de ácido ascórbico y 80 mg/l de gentamicina al agua del último enjuague.

Medio de cultivo

El medio de cultivo utilizado consistió de las sales minerales y vitaminas descritas por Murashige y Skoog (MS) (1962), con 30 g/l de sacarosa y 2,3 g/l de Phytigel (cuando el medio fue sólido). El pH se ajustó a 5,8 antes del autoclavado. Se dispensó un volumen de 20 ml en cada frasco de cultivo de 175 ml de capacidad (medio básico).

Establecimiento *in vitro*

Durante la etapa de establecimiento *in vitro* los explantes (un nudo o brote apical) fueron cultivados en el medio de cultivo básico enriquecido con thidiazuron (TDZ, 0, 0,5, 1,2 y 3 mg/l) o benciladenina (BA, 0, 2,5, 5, 10 y 15 mg/l), en la oscuridad durante una semana y luego transferidos a condiciones de luminosidad (2000 Lux).

Multiplicación

Durante la etapa de multiplicación, los brotes obtenidos durante la etapa de establecimiento (sin distinción del origen del material introducido), fueron cultivados en el medio básico al que se le adicionó de 0 a 2 mg/l de BA, sólo o en combinación con 0,02 y 0,2 mg/l ácido indolbutírico (AIA), ó 0,2 y 0,5 mg/l isopenteniladenina (2ip), ó 0,2 mg/l cinetina (K). Para subsecuentes ciclos de multiplicación, los brotes desarrollados fueron subdivididos en los entrenudos y se cultivó un explante (que consistió de un nudo, también llamado microestaca) en cada frasco de cultivo en el medio de cultivo básico enriquecido con los reguladores de crecimiento que indujeron la mayor tasa de multiplicación.

Enraizamiento

Para el enraizamiento *in vitro*, los brotes producidos durante la multiplicación (brote apical más dos nudos) fueron transferidos al medio de cultivo básico fresco, con la concentración de sales completa (MS) o reducida a la mitad (MS/2). Otros tratamientos consistieron en la incubación de los brotes por 48 horas en 10 ml de medio de cultivo básico líquido con la concentración de sales completa o reducida a la mitad, enriquecido con 0, 2,5 ó 25 mg/l de ácido indolbutírico (AIB), en presencia de luz u oscuridad. La incubación se llevó a cabo en tubos de ensayo. Pasado este periodo, los explantes fueron cultivados en el medio básico sólido con la concentración de sales reducida a la mitad por 4 a 6 semanas o fueron sembrados en tierra en condiciones de invernadero. Posteriormente se evaluó la inducción de enraizamiento en presencia y ausencia de soluciones enraizadoras en el sitio permanente de siembra de las plantas, en condiciones de casa de mallas o propagadores (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos evaluados para el enraizamiento de brotes de teca (*Tectona grandis*) producidos en condiciones de cultivo *in vitro*.

Tratamientos*	
1	MS, presencia de luz, enraizamiento <i>in vitro</i>
2	MS/2, enraizamiento <i>in vitro</i>
3	MS/2 + 2,5 mg/l AIB por 48 horas, en presencia de luz, enraizamiento <i>in vitro</i> .
4	MS/2 + 2,5 mg/l AIB por 48 horas, en oscuridad, enraizamiento <i>in vitro</i> .
5	MS/2 + 2,5 mg/l AIB por 48 horas, en oscuridad, enraizamiento en invernadero.
6	MS/2 + 25 mg/l AIB por 3 minutos antes de la siembra en invernadero.
7	25 mg/l AIB en agua, por 3 minutos antes de la siembra en propagador en el sitio de siembra.
8	Siembra de brotes directamente en propagadores en el sitio de siembra.

*Cada prueba se repitió dos veces con 25 brotes por tratamiento, excepto el tratamiento 8, en el que se evaluaron 50 brotes en cada ensayo.

RESULTADOS

Desinfección y establecimiento *in vitro*

Durante el establecimiento *in vitro* de los explantes provenientes de estacas mantenidas en vivero (material tierno) se observó que, tanto el hipoclorito de calcio como el hipoclorito de sodio, en las concentraciones evaluadas, fueron efectivos para obtener el establecimiento de los materiales bajo las condiciones del cultivo de tejidos (Cuadro 2). Los tratamientos que permitieron obtener los mayores porcentajes de explantes asépticos fueron la incubación durante 10 minutos en NaOCl al 60% de producto comercial (con 4% i.a.) y el tratamiento que incluyó la incubación en $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ al 6% de producto comercial (con 67% i.a.) por 4 minutos utilizando la bomba de vacío, seguido por la incubación durante 4 minutos en agitación (61% y 52% de explantes asépticos, respectivamente). Los tratamientos que incluyeron la incubación en $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ al 6% por 8 minutos en agitación y la previa incubación en Agrimicin® y Benlate® por 90 minutos, permitieron obtener porcentajes de materiales establecidos asépticamente menores, comparados con los dos primeros tratamientos evaluados (34% y 44% de explantes asépticos, respectivamente).

El hipoclorito de sodio y de calcio son dos de las sustancias comúnmente recomendadas para la desinfección superficial de materiales a introducir al cultivo *in vitro*. Son de fácil adquisición, bajo costo en el mercado y muy eficientes para este propósito. El uso de la bomba de vacío y la agitación durante el periodo de incubación rompe la tensión superficial del agua, permitiendo un mayor contacto del material vegetal con el desinfectante y por ende, mayor eficiencia del producto durante la desinfección (CIAT, 1991). Esto concuerda con los resultados obtenidos en este estudio, en el que la combinación de hipoclorito de calcio con incubación en bomba de vacío y la agitación de los explantes con la solución de desinfectante resultó en el mejor tratamiento para la obtención de un mayor porcentaje de material aséptico.

Cuadro 2: Efecto del método de desinfección sobre el establecimiento *in vitro* de brotes de teca (*Tectona grandis*) provenientes de estacas mantenidas en invernadero.

Desinfección	Explantes asépticos (%)
Hipoclorito de calcio al 6% por 4 min. al vacío y 4 min. en agitación.	52
Hipoclorito de sodio al 60% durante 10 min. en agitación.	61
Hipoclorito de calcio al 6% por 8 min. en agitación.	34
Benlate® + Agrimicin® (1g/l c/u) por 90 min. + Hipoclorito de calcio al 6% por 8 min. en agitación.	44

Una vez logrado el establecimiento aséptico de este tipo de explantes de teca, se evaluó el efecto del thidiazuron (TDZ) y la benziladenina (BA) sobre la brotación de las yemas. El TDZ es una fenilurea sustituida, considerada en la actualidad como uno de los más efectivos reguladores de la morfogénesis en cultivo de tejidos vegetales, tanto de herbáceas como leñosas (Murthy *et al.*, 1998). Por otra parte, el BA es una citocinina derivada de la adenina y es uno de los reguladores de crecimiento que más se ha utilizado para la micropropagación de plantas (CIAT, 1991).

En este trabajo se observó que ambos reguladores del crecimiento fueron efectivos en las concentraciones evaluadas; sin embargo, el grado de respuesta de los explantes dependió del regulador del crecimiento y de su concentración (Cuadro 3). Se observaron los mayores porcentajes de brotación con 2,5 mg/l de BA (100% de brotación de las yemas), seguido de la concentración de 5 mg/l de BA que resultó en un 88% de brotación. Un porcentaje similar de brotación se observó con el tratamiento que consistió de 2 mg/l de TDZ, que promovió la brotación del 80% de los explantes tratados, las otras concentraciones de TDZ evaluadas promovieron un menor porcentaje de brotación de yemas.

Cuadro 3. Efecto del regulador del crecimiento sobre la brotación *in vitro* de yemas de teca (*Tectona grandis*) provenientes de estacas mantenidas en invernadero (estacas tiernas)*.

Regulador del crecimiento (mg/l)	Brotación (%)
TDZ	
0	44
0,5	47
1	61
2	80
3	38
BA	
0	62
2,5	100
5	88
10	33

*Cada tratamiento consistió de al menos 30 explantes.

Para el establecimiento *in vitro* de los brotes provenientes de material de campo (semi-leñosas), ninguno de los tratamientos que incluyó una o dos desinfecciones con $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ o NaOCl en las diferentes concentraciones y tiempos de incubación evaluados, en agitación o vacío, en combinación con Agrimicin® y Benlate® o con gentamicina en el último enjuague, fue efectivo para lograr explantes asépticos y brotados (datos no se muestran). Por otra parte, la utilización de cloruro de mercurio (Cuadro 4) en concentraciones de 1,5% y 1,0% permitieron reducir la contaminación a niveles del 3% y 5% respectivamente, pero estos explantes no fueron capaces de brotar. Sin embargo, cuando se utilizó este desinfectante en concentraciones de 0,5% durante 10 minutos, después de la incubación en Benlate® y Agrimicin® (1,5 g/l de cada uno durante 90 minutos), se observó un mayor porcentaje de explantes contaminados (58%), pero el 40% del total de material sometido a desinfección logró el establecimiento aséptico y la brotación de las yemas.

Debido a su eficiencia durante los procesos de desinfección de explantes, especialmente en aquellos casos en que los explantes tienen alto grado de contaminación, como es el caso de explantes de leñosas que han pasado años en contacto con organismos variados y cuando los desinfectantes más comunes como el hipoclorito de calcio y de sodio no resultan los más adecuados, el cloruro de mercurio es recomendado (CIAT, 1991). Monteuis *et al.* (1998), trabajando con estacas de campo de teca, también utilizaron el cloruro de mercurio (0,25% durante 30 minutos) durante el establecimiento aséptico y justificaron la práctica con base en la dificultad de desinfectar este tipo de material más leñoso. Similares tratamientos han sido recomendados para la desinfección de semillas de teca (Daquinta *et al.*, 2001; Monteuis *et al.*, 1998). Por el alto grado de toxicidad de este producto, su manejo por parte del técnico debe ser muy cuidadoso. Por lo anterior, sería recomendable practicar la siembra de las estacas colectadas en el campo en condiciones de invernadero y tratarlas por varias semanas con algunos de los productos fungicidas y bactericidas que se encuentran fácilmente en el mercado, antes de iniciar la fase de establecimiento *in vitro*.

Cuadro 4. Efecto del método de desinfección sobre la contaminación y la brotación de las yemas de las estacas de teca (*Tectona grandis*) provenientes de plantas de campo (estacas semi-leñosas)*.

Desinfección	Contaminación (%)	Brotación (%)
Benlate® + Agrimicin® (2 g/l c/u) por 20 min. al vacío + Cloruro de mercurio al 1,5% por 8 min. en agitación y 4 min. al vacío + 3 ^{er} enjuague con 100 mg/l Ácido Ascórbico + 80 mg/l gentamicina.	3	0
Igual al anterior + 1 g/l de Cloruro de mercurio	5	0
Benlate® + Agrimicin® (1,5 g/l c/u) por 90 min. en agitación + Cloruro de mercurio al 0,5% por 10 min. en agitación.	58	40

*Cada tratamiento se evaluó con 30 explantes.

Al evaluar el efecto del BA en la brotación de las estacas semi-leñosas (estacas obtenidas de árboles creciendo en campo), se observó que las concentraciones más eficientes para la brotación de las yemas y el desarrollo de los brotes fueron mucho mayores a las requeridas para la brotación de las estacas más tiernas. La concentración de 2 mg/l de BA no permitió la brotación y con 5 mg/l de BA únicamente el 24% logró brotar. El mayor porcentaje de éxito (80%) se alcanzó cuando se utilizaron 10 mg/l de BA. La mayor concentración evaluada (15 mg/l de BA), al parecer indujo un efecto negativo, ya que la brotación se redujo al 33%. La exigencia de una mayor concentración del regulador del crecimiento para inducir la respuesta deseada en explantes más maduros es

común a la gran mayoría de especies vegetales y se explica con base en la menor sensibilidad de los tejidos (CIAT, 1991) y menor juvenilidad del material (Monteuuis *et al.*, 1998).

Cuadro 5: Efecto de la concentración de benciladenina (BA) en la brotación de estacas semi leñosas de teca (*Tectona grandis*)*.

Concentración de BA (mg/l)	Brotación ± SE (%)
0	0
2,5	0
5	24 ± 2
10	80 ± 3
15	33 ± 2

*Cada experimento consistió de 10 explantes por tratamiento y fue repetido tres veces.

Multiplicación

Una vez obtenida la brotación de las yemas, éstas fueron cultivadas en el medio básico MS, suplementado con varios reguladores de crecimiento para evaluar su efecto en la multiplicación de teca. Los resultados de estas experiencias (Cuadro 6) mostraron que la teca es un material de fácil regeneración, ya que aún en el medio sin reguladores de crecimiento, la mitad de las microestacas fueron capaces de desarrollar un brote. Sin embargo, la adición de 1 mg/l y 2 mg/l de BA favoreció el desarrollo de un mayor porcentaje de brotes (64% y 71%, respectivamente), incrementando también el número de ejes por estaca a 2 y 3, respectivamente. Cuando se combinó el BA (2 mg/l) con AIA (0,02 mg/l) se observó el mayor porcentaje de brotación (80%) y la mayor producción de ejes por estaca (4,6 ejes por estaca). Sin embargo, cuando la concentración de AIA fue incrementada a 0,2mg/l, la brotación se disminuyó (55%), lo mismo que el número de ejes por estacas (2 ejes), a la vez se incrementó el porcentaje de microestacas que produjeron callo en lugar de brote (45%). La kinetina (K) y la isopenteniladenina (2ip), aún cuando fueron evaluadas en concentraciones bajas, fueron efectivas para inducir la brotación. Daquinta *et al.* (2001) recomendaron la combinación de BA (1, 1,5 y 2 mg/l) y K (0,5 mg/l) para la multiplicación de brotes de teca; sin embargo, el número de ejes producidos, en comparación con nuestro mejor tratamiento, fue menor (de 1 a 2,4 ejes por brote). Ningún trabajo realizado en micropropagación de teca ha informado sobre el uso de 2ip; sin embargo; por los porcentajes de brotación, número de ejes por estaca y el bajo porcentaje de callo producido, lo mismo que por la vigorosidad que presentaron los brotes desarrollados, sería recomendable evaluar este regulador del crecimiento en concentraciones mayores.

Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los informados por Rathore *et al.* (1993), quienes encontraron que la combinación BA y AIA, (2mg/l y 0,02 mg/l, respectivamente) fue la más eficiente para la multiplicación de teca. Por otra parte, Umboh (1988) señaló que la combinación BA y ANA también resultó eficiente para inducir la multiplicación de teca, aún cuando no informaron sobre la cantidad de ejes o nudos producidos.

Cuadro 6. Efecto de los reguladores de crecimiento adicionados al medio de cultivo MS en la multiplicación *in vitro* de teca (*Tectona grandis*).

Tratamiento (Regulador de crecimiento, mg/l)	Tipo de regeneración		Ejes por estaca (#)
	Brote (%)	Callo (%)	
MS simple	50	0	1 ± 0,2
1 BA	64	0	2 ± 0,3
2 BA	71	29	3 ± 0,4
2 BA + 0,02 AIA	80	20	4,6 ± 0,4
2 BA + 0,2 AIA	55	45	2 ± 0,7
0,2 K	56	0	1 ± 0,3
0,2 2ip	73	3	2 ± 0,3

Cada eje producido por brote durante la primera multiplicación presentó alrededor de 3 a 4 nudos. Para continuar el proceso de multiplicación, los ejes fueron subdivididos en los entrenudos (microestaca) y se subcultivó una microestaca en el mismo medio de cultivo. El nuevo brote produjo al menos 3 nudos utilizables para iniciar un nuevo ciclo de multiplicación. Estos resultados concuerdan con los observados por (Monteuus *et al.*, 1998).

Enraizamiento

Para la inducción del enraizamiento, los brotes producidos durante la etapa de multiplicación (brote apical con 2 a 3 nudos) fueron transferidos al medio de cultivo básico en ausencia de reguladores de crecimiento, tanto con la concentración de sales completa (Tratamiento 1) como reducida a la mitad (Tratamiento 2). Se observó que únicamente el 8% y el 18% respectivamente, desarrollaron raíces. Al incubar los brotes por 48 horas en el medio con la concentración de sales reducida a la mitad, pero con 2,5 mg/l de AIB, los porcentajes de enraizamiento incrementaron considerablemente, observándose que el 46% enraizó en presencia de luz (Tratamiento 3) y 83% cuando el periodo de incubación se realizó en la oscuridad (Tratamiento 4). Este último tratamiento se evaluó sembrando los brotes directamente en un sustrato de tierra-granza de arroz (2:1) en condiciones de invernadero (Tratamiento 5), tratando de lograr tanto el enraizamiento como la aclimatación en el mismo tiempo. Se observó un porcentaje de enraizamiento similar (80%) al obtenido en condiciones *in vitro*. Al evaluarse el efecto de una concentración mayor de la solución enraizadora (25 mg/l AIB) y un periodo de incubación menor (3 min.), se observó que los brotes enraizados en condiciones de invernadero (Tratamiento 6) respondieron positivamente al desarrollo de raíces en un 68% y aquellos sembrados en propagadores en el sitio de siembra (Playa Garza, Guanacaste) (Tratamiento 7) en un 92%. Al sembrar directamente los brotes en propagadores en el sitio de siembra permanente, sin reguladores de crecimiento (Tratamiento 8), el porcentaje de enraizamiento fue del 96%.

Estos resultados parecen indicar que no es necesario utilizar sustancias enraizadoras cuando los materiales son sembrados en condiciones climáticas favorables para el crecimiento de la especie, lo que concuerda con lo informado por Monteuus *et al.* (1998), quienes obtuvieron un éxito promedio del 90% en la aclimatación de plántulas sin importar si fueron o no enraizadas *in vitro*. Otra ventaja de esta práctica es que permite que tanto el proceso de enraizamiento como la aclimatación de las plántulas se lleven a cabo simultáneamente, acortando los tiempos requeridos para la propagación masiva de teca. Caso contrario ocurre cuando se desea enraizar las plántulas en condiciones *in vitro* o en invernadero en sitios diferentes a los recomendados para la especie,

situaciones en las cuales el uso de enraizadores fue necesario y los periodos de aclimatación toman un tiempo adicional en el proceso de multiplicación masiva.

Las plántulas producidas *in vitro* fueron sembradas en un ensayo comparativo contra plántulas producidas a partir de semillas y a partir de estacas enraizadas. A la fecha, las vitroplantas se desarrollan de manera satisfactoria (Figura 1).

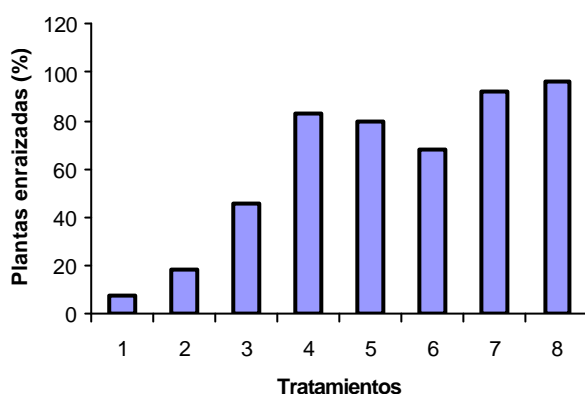


Figura 1. Respuesta de los brotes de teca (*Tectona grandis*) a los tratamientos de enraizamiento.

La introducción de la técnica de micropropagación en programas de mejoramiento genético y propagación masiva es una práctica común en muchas especies, debido a que facilita el rápido incremento de los materiales de siembra seleccionados, a la vez que permite conservar las características deseables. En este estudio se mostró la factibilidad de propagar teca utilizando la micropropagación. Todas las etapas evaluadas durante esta experiencia permitieron alcanzar el objetivo deseado, con porcentajes de éxito comparables o superiores a los mostrados en otros estudios reportados. Sin embargo, es opinión de los autores que dependiendo del material a utilizar, es posible que se requiera hacer algunas modificaciones a este protocolo, sobre todo en lo que respecta a la etapa de introducción y establecimiento aséptico, debido a las variaciones en la sanidad de los materiales como resultado de su procedencia y aún más, dependiendo de la época del año en que éstos se colecten para iniciar la micropropagación. Sin duda, las ventajas que presenta la micropropagación de teca para los mejoradores, propagadores y comercializadores de semilla, la hacen una técnica muy atractiva.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen el apoyo financiero recibido de la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), el Fondo de Incentivos del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MICYT), el Consejo Nacional para las Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) y la empresa Maderas Preciosas de Costa Rica (MACORI) para el desarrollo de esta investigación.

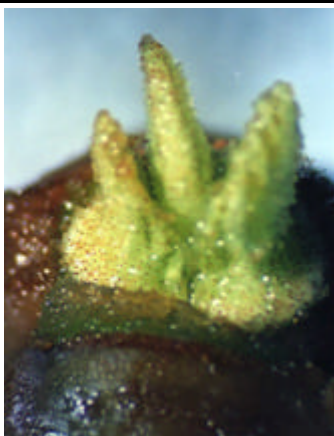


BIBLIOGRAFÍA

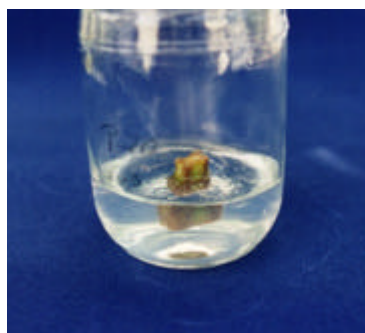
- Arce, V; Moya, R. 2001. Efecto del espaciamiento de plantación sobre el porcentaje de duramen en la madera de teca (*Tectona grandis*). Boletín Kurú. Instituto Tecnológico de Costa Rica. 31: 3-6.
- Chávez, E; Fonseca, W. 1991. Teca (*Tectona grandis*): especie de árbol de usos múltiples en América Central. Turrialba, Costa Rica. 48p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1991. Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. Roca, W.M. y Mroginski, L.A. (eds.). Cali, Colombia. pp. 20-92.
- Daquinta, M; Ramos, L; Capote, I; Lezcano, Y; Rodríguez, R; Trina, D; Escalona, M. 2001. Micropropagación de la teca (*Tectona grandis* L.). Revista Forestal Centroamericana. 35:25-28.
- Engelmann, F; Takagi, H. 2000. Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application. Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Tsukuba, Japan/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. pp. 8-20.
- Estado de la Nación en Desarrollo Humano Sostenible. 2000. Estado de la Nación en desarrollo humano sostenible. San José, Costa Rica. 414p.
- Mascareñas, AF; Kendurkar, SW; Khuspe, SS. 1993. Micropropagation of teak. In: Micropropagation of woody plants. Arauja, M.R. (ed.). Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. pp. 247-262.
- Monteuuis, O; Bon, MC; Goh, DKS. 1998. Teak propagation by *in vitro* culture. Bois et Forêts des Tropiques. 256:1-11.
- Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.
- Murillo, O; Rojas, JL; Barrantes, G; Badilla, Y; Jiménez, M; Mesén, F. 2001. Mejoramiento genético de la teca en Costa Rica. Boletín Kurú. Instituto Tecnológico de Costa Rica. pp. 7-9.
- Murthy, BNS; Murch, SJ; Saxena, PK. 1998. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. In Vitro Cell Developmental Biology. 34: 267-275.
- Rathore, IS; Singh, RP; Skekhawat, NS. 1993. Clonal propagation of desert teak (*Tectona undulata*) through tissue culture. Plant Science Limerich. 79:217-222.
- Umboh, MIJ. 1988. The application of tissue culture techniques in economically important tropical trees. Biotrop Spec. Publ. 35:77-86

ANEXO

Micropropagación de teca (*Tectona grandis*L.f). Ilustraciones de procesos



Brotación de yemas de teca (*Tectona grandis*L.f) en condiciones *in vitro*.



Explante inicial (estaca) de teca (*Tectona grandis* L.f.) establecido en condiciones *in vitro*.



Plántula de teca (*Tectona grandis* L.f) desarrollada y lista para transferir a condiciones de enraizamiento y aclimatación.



Multiplicación *in vitro* de brotes de teca (*Tectona grandis* L.f).



Plántulas de teca producidas *in vitro* (*Tectona grandis* L.f) en estado de aclimatación.