




GA₃ y BAP en la productividad de minijardines clonales de *Tectona grandis* Linn. F

GA₃ and BAP on the productivity of clonal mini gardens of *Tectona grandis* Linn. F

Arantxa Rodríguez-Solís¹  • Yorleny Badilla-Valverde²  • Olman Murillo² 

Recibido: 12/12/2022

Aceptado: 17/07/2023

Abstract

Growth regulators facilitate propagation and increase yield in plant production. Adding different amounts of regulators cause greater effectiveness in cell regeneration. Therefore, this study evaluated the effect of different doses of GA₃ (gibberellic acid) and BAP (benzylaminopurine) on the productivity of clonal teak mini gardens in San Carlos, Costa Rica. A trial with a factorial design (2x4) was established. GA₃ and BAP were used as factor (A), while doses of 0, 5, 10, and 20 mg l⁻¹ were used as factor (B). The analysis of variance and comparison tests showed that the use of GA₃ significantly increased shoot production and shoot length, while BAP had no significant effect on production. The application of 10 and 20 mg l⁻¹ of GA₃ increased shoot production per mother plant from 1.02 to 1.47 and 1.50 increasing the production by 44 and 47 % respectively, in ordinary biweekly harvest, and 169 to 172 shoots per square meter corresponding to 38 and 33 %. When 5 mg l⁻¹ to 20 mg l⁻¹ of GA₃ were applied, shoots from 4.19 to 4.44 cm in length were obtained. In the rooting rate, the differences were presented in GA₃ which proved to be superior to BAP by 49 % for the average daily rooting, with a rate of 1.30 shoots per day. In conclusion, applying 10 mg l⁻¹ of GA₃ is sufficient to increase the productivity performance of clonal teak mini gardens.

Keywords: Teak, greenhouse, tree improvement, vegetative propagation, growth regulators.

1. Maestría en Ciencias Forestales de la Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico de Costa Rica; Cartago, Costa Rica; arantxarodriguezs@gmail.com

2. Escuela de Ingeniería Forestal-CIF, Instituto Tecnológico de Costa Rica; Cartago, Costa Rica; ybadilla@itcr.ac.cr; olmuga@yahoo.es

Resumen

Los reguladores de crecimiento facilitan la propagación y aumentan el rendimiento en la producción de plantas. La adición en diferentes cantidades determina una mayor efectividad en la regeneración celular. Por tanto, este estudio evaluó el efecto de varias dosis del GA₃ (ácido giberélico) y de la BAP (bencilaminopurina) en la productividad de minijardines clonales de teca en San Carlos, Costa Rica. Se estableció un ensayo con diseño factorial (2x4). Como factor (A) se utilizó al GA₃ y la BAP, mientras que como factor (B) las dosis 0, 5, 10 y 20 mg l⁻¹. El análisis de varianza y pruebas de comparación mostraron que el uso del GA₃ aumentó significativamente la producción y longitud de brotes. Y, el BAP no presentó efectos significativos en la producción. La aplicación de 10 y 20 mg l⁻¹ de GA₃ aumentó la producción de brotes por planta madre de 1,02 a 1,47 y 1,50 aumentando la producción en un 44 y 47 % respectivamente, en cosecha quincenal ordinaria, y 169 hasta 172 brotes por metro cuadrado correspondiente a un 38 y 33 %. Al aplicar 5 mg l⁻¹ hasta 20 mg l⁻¹ de GA₃ se obtuvo brotes desde 4,19 a 4,44 cm de longitud. En la tasa de enraizamiento, las diferencias se presentaron en el GA₃ que demostró ser superior al BAP en un 49 % para el enraizamiento diario medio, con una velocidad de 1,30 brotes por día. En conclusión, aplicar 10 mg l⁻¹ de GA₃ es suficiente para aumentar el rendimiento en la productividad de minijardines clonales de teca.

Palabras clave: Teca, ambiente protegido, mejoramiento genético, propagación vegetativa, reguladores de crecimiento.

Introducción

Los reguladores de crecimiento han sido un componente importante en la producción de plantas [1]. Las giberelinas, citoquininas y auxinas promueven un aumento y alargamiento de brotes reproductivos y vegetativos [2]. Facilitan la propagación y aumentan considerablemente el rendimiento en la producción de plantas, principalmente de cultivos *in vitro* [3], [4].

Las giberelinas ayudan al desarrollo temprano de embriones, a la hiper elongación de tallo, maduración de polen, floración, desarrollo del fruto y expansión foliar, tanto *in vitro* como *ex situ* [5]–[7]. Las citoquininas como el 6-bencilaminopurina (BAP), ayudan a la formación de yemas, desarrollo de brotes, ampliación de hojas y cotiledones, mejoran el desarrollo reproductivo, la fotosíntesis y senescencia [6], [8], [9]. La asociación de citoquininas y giberelinas en diferente concentración ayudan en la regeneración de células caulinares [3].

Además, el GA₃, BAP y kinetinas han sido también utilizadas en inducción floral *in vitro* [10].

En *Chlorella pyrenoidosa*, se utilizó el ácido giberélico, el ácido indol-3-butírico, la kinetina, la 6-bencilaminopurina y el ácido 1-naftalenoacético, en concentraciones que iban de 2 mg l⁻¹ a 10 mg l⁻¹, donde 4 mg l⁻¹ en BAP aumentó la biomasa y el rendimiento en la producción [11]. En plantas jóvenes de *Cinchona ledgeriana* la adición de GA₃ aumentó la altura y el tamaño de las hojas, mientras que la aplicación de BAP aumentó el diámetro de tallo, número de hojas y contenido de clorofila [12]. En cultivos de *Solanum tuberosum* las citoquininas influyeron de manera positiva en la productividad del cultivo [13].

En pináceas las más utilizadas para aumento en la producción de brote reproductivo, vegetativo y en su longitud apical fueron la giberelina cuatro más siete (GA_{4/7}), la bencilaminopurina (BAP) y el ácido naftalenacético (NAA-800) [14]. De un estudio realizado con plantas en vivero de *Swietenia macrophylla* King, resultó que aplicar giberelinas por aspersion aumentó la relación de área foliar, causado probablemente por un mayor desarrollo de su aparato fotosintético [7]. En propagación *in vitro* de *Tectona grandis* en Cuba, se reportó que concentraciones de 2,22 μM de 6-BAP produce hasta 4 brotes por explante [15]. En micropropagación *in vitro* de *Tectona grandis* en Costa Rica, la aplicación de 10 mg l⁻¹ de benziladenina (BA), produjo la mayor cantidad de brotación de yemas en estacas provenientes del campo [16].

En propagación *in vitro* es conocido que, para obtener una multiplicación y alargamiento de brotes de manera homogénea, es necesario la adición de giberelinas como el GA₃, aunque también se obtiene por combinaciones entre BAP, ANA, AIB y GA₃ [4]. Para obtener un aumento de la tasa de multiplicación [17]. Y al beneficio potencial del uso de estos fitoreguladores en la producción de plantas, combinado con el aumento del mercado de plantas clonadas para reforestación en el país [18]–[20].

A pesar del amplio conocimiento del uso de reguladores de crecimiento en la propagación *in vitro*, no se cuenta con suficiente experiencia en su aplicación en condiciones de propagación *in vivo* o ambiente protegido; se planteó esta investigación, cuyo objetivo fue determinar el efecto del BAP y del GA₃, a diferentes dosis, en la productividad del minijardín clonal de *Tectona grandis* en ambiente protegido.

Materiales y métodos

Descripción de sitio y de las condiciones experimentales

El estudio se realizó en los invernaderos de la Cooperativa Internacional de Mejoramiento Genético Forestal (GENFORES), ubicados en el campus Tecnológico de San Carlos, zona norte de Costa Rica, coordenadas 10° 21 '39,28" Latitud Norte y 84° 30' 28,72" Longitud Oeste, a una elevación de 167 m.s.n.m [21]. El sitio se ubica dentro del Bosque Muy húmedo Tropical [22]. Esta región presenta un promedio de precipitación de 3200 mm anuales, con el mayor registro de lluvia de mayo a enero. Durante la estación seca (febrero-abril) la precipitación es menor a 50 mm mensuales. La temperatura promedio anual es de 25°C; con valores más altos durante los meses de marzo a junio y los más bajos entre diciembre a febrero [23].

Descripción y manejo del ambiente protegido

El ambiente protegido fue construido con una cobertura completa de polietileno transparente con tratamiento ultravioleta. Y el minijardín por bancales a nivel del suelo. Se utilizó un sistema de fertirriego automatizado, utilizando una bomba (1 atm de presión) [25]. Las plantas madre para el ensayo se produjeron vegetativamente de las colecciones genéticas de GENFORES como lo describe Badilla [24]. Para el manejo del ensayo se utilizó el protocolo empleado por GENFORES en la producción comercial. Durante el experimento, la cosecha de los brotes se realizó cada 15 días durante un mes y medio.

Diseño experimental

El ensayo se estableció con un diseño factorial donde se evaluaron dos fitorreguladores y cuatro dosis de aplicación, con tres repeticiones (genotipos). La unidad experimental de cada tratamiento consistió en 14 plantas (rametos). Los fitorreguladores evaluados fueron (1) ácido giberélico (GA_3) y (2) 6-bencilaminopurina (BAP). Las cuatro dosis correspondieron a 0 $mg\ l^{-1}$ como testigo, 5 $mg\ l^{-1}$, 10 $mg\ l^{-1}$ y 20 $mg\ l^{-1}$ (figura 1a).

La preparación de 100 ml para cada uno de los tratamientos (dosis de 20, 10 y 5 $mg\ l^{-1}$), se obtuvo mediante una solución con 0,002, 0,001 y 0,0005 \pm 0,0001 g de producto respectivamente. Cada concentración fue disuelta en una cantidad de 3-4 gotas de alcohol etílico al 95 % hasta conseguir la disolución total del fitorregulador [5], [12]. Posteriormente, se adicionó agua destilada hasta completar 100 ml de disolución.

Se utilizó un dispensador de líquido de 50 ml de volumen, identificado para cada dosis y fitorregulador. Se procedió



Figura 1. Ensayo de aplicación de dosis de GA_3 y BAP en minijardines clonales de *Tectona grandis*. (a) Vista del bancal con la distribución de unidades experimentales, (b) aislamiento temporal con cartón, de cada parcela durante la aplicación del tratamiento (dosis), San Carlos, Costa Rica.

Figure 1. GA_3 and BAP application trial in clonal mini gardens of *Tectona grandis*. (a) View of the bed with the distribution of experimental units, (b) temporary isolation with cardboard of each plot during the application of the treatment (dose), San Carlos, Costa Rica.

a rociar toda el área foliar de cada unidad experimental con aproximadamente 0,45 ml de solución por planta. Las aplicaciones se realizaron a las 6:00 am y tres días posterior a la cosecha de brotes [26]. Para mantener un mejor control de la aplicación, se aisló cada parcela con una pared de cartón (figura 1b).

Variables de respuesta

Las variables fueron a) tasa de producción de brotes por planta madre en cada cosecha, b) producción de brotes por área (m^2), c) longitud del brote (cm), d) mortalidad y e) tasa de enraizamiento de los brotes. Se crearon tres variables adicionales que evaluaron el enraizamiento de las estaquillas, bajo los principios utilizados con la velocidad de germinación de semillas [27]–[29]. Para su determinación, se pusieron los brotes a enraizar al aire con base en la metodología de GENFORES [18]. Los parámetros estimados fueron: enraizamiento diario medio, índice de velocidad de enraizamiento y valor del enraizamiento.

Para el enraizamiento diario medio (EDM), se utilizó la siguiente fórmula
$$EDM = \sum \left(\frac{n_i}{t} \right) \quad (1)$$

Donde, n_i = número de brotes enraizados al día i ; t = tiempo de enraizamiento desde el día cero hasta el enraizamiento del último brote.

$$VE = EDM * VP \quad (2)$$

El valor del enraizamiento (VE) mediante la siguiente expresión [27], [28].

Donde, EDM= enraizamiento diario medio; VP= corresponde al enraizamiento diario medio máximo alcanzado en el ensayo.

El índice de $IVE = \frac{P1}{T1} + \frac{P2}{T2} + \frac{P3}{T3} + \dots + \frac{Pn}{Tn}$ se calculó mediante la siguiente expresión [28]

Donde, P1, P2, P3..., Pn = número de brotes enraizados en el primer, segundo, tercer y último conteo de la evaluación; T1, T2, T3..., Tn = tiempo en días para cada enraizamiento.

Análisis estadístico

Para el procesamiento de la información se utilizó Microsoft Excel 365 e InfoStat (IS) versión 2020. Se realizó comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas para proceder luego con un ANDEVA (p < 0,05). Una vez verificado los datos y encontradas diferencias entre los tratamientos, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey para el factor de los fitorreguladores y dosis aplicadas, y contrastes ortogonales para comparar las interacciones fitorregulador*dosis.



Figura 2. Plantas madre de *Tectona grandis* en el minijardín clonal bajo el efecto del GA₃, San Carlos, Costa Rica.

Figure 2. *Tectona grandis* mother plants in the clonal mini garden under the effect of GA₃, San Carlos, Costa Rica.

Resultados

En el cuadro 1 se muestra el resultado del análisis de varianza con los valores de probabilidad basados en un nivel del 95 % de confiabilidad.

El análisis de varianza, la tasa de brotadura, producción de brotes por metro cuadrado y longitud de brote mostraron diferencias significativas para los factores fitorregulador, dosis y la interacción fitorregulador*dosis. La variable mortalidad no presentó diferencias significativas en los factores mencionados (cuadro 1). En la prueba de comparación múltiple, el fitorregulador GA₃ presentó el mejor rendimiento, con 1,30 brotes por planta y 188,17 brotes por área con relación al BAP que registró 0,96 brotes por planta y 139,78 brotes por metro cuadrado. Para la longitud de brote registró un promedio de 4,92 cm con GA₃, mientras que con el BAP los brotes midieron 3,90 cm.

Cuadro 1. Efecto de la aplicación del GA₃ y BAP en la productividad de minijardines clonales de teca, San Carlos, Costa Rica.

Table 1. Effect of GA₃ and BAP application on the productivity of clonal teak mini gardens, San Carlos, Costa Rica.

Fuente de Variación	Valor de p			
	Tasa brotadura	Producción de brotes por área (m ²)	Longitud de brote	Mortalidad
Fitorregulador	0,008**	0,008**	0,0086**	0,003ns
Dosis	0,0003**	0,0003**	0,0065**	0,7615ns
Fitorregulador*Dosis	0,0017**	0,0017**	0,0017**	0,8138ns
Repetición (clon)	0,0056**	0,0056**	0,0096**	0,0233*
Fitorregulador*Repetición	0,2376ns	0,2376ns	0,4578ns	0,1738ns
Dosis*Repetición	0,4432ns	0,4432ns	0,2468ns	0,0990ns

Modelo: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_{ij} + \epsilon_{ijk}$ *p>0.95; **p>0.99; ns= no significativo

Cuadro 2. Contrastes ortogonales en la evaluación del efecto de dosis de GA₃ y BAP en la productividad de minijardines clonales de *Tectona grandis*, San Carlos, Costa Rica.

Table 2. Orthogonal contrasts in the evaluation of the effect of GA₃ and BAP doses on the productivity of clonal mini-gardens of *Tectona grandis*, San Carlos, Costa Rica.

	Contrastes	Valor de p		
		Tasa de brotación	Producción de brotes por área (m ²)	Longitud de brote
BAP	1. Testigo vs Dosis 5, 10, 20 mg l ⁻¹	0,3861ns	0,3861ns	0,5562ns
	2. Dosis 20 mg l ⁻¹ vs Dosis 5 y 10 mg l ⁻¹	0,551ns	0,551ns	0,5474ns
	3. Dosis 10 mg l ⁻¹ vs Dosis 5 mg l ⁻¹	0,5503ns	0,5503ns	0,8909ns
GA ₃	4. Testigo vs Dosis 5, 10, 20 mg l ⁻¹	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	5. Dosis 20 mg l ⁻¹ vs Dosis 5 y 10 mg l ⁻¹	0,0175*	0,0175*	0,0993ns
	6. Dosis 10 mg l ⁻¹ vs Dosis 5 mg l ⁻¹	0,009**	0,0019**	0,2915ns
Contraste general	7. BAP*Dosis vs GA ₃ *Dosis	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**

Modelo: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_{ij} + \epsilon_{ijk}$ *p>0.05; **p>0.01; ns= no significativo

El efecto dosis, la prueba demostró la formación de dos grupos, que presentaron diferencias significativas para la producción de brotes. El primer grupo se formó entre el testigo y la dosis de 5 mg l⁻¹ con valores entre 0,97 a 1,07 brotes por planta madre. El segundo grupo lo conformaron las dosis 10 mg l⁻¹ y 20 mg l⁻¹, con valores promedios de 1,23 a 1,25 brotes por planta respectivamente. Para longitud de brotes, las diferencias fueron entre el testigo (3,92 cm) y todas las dosis (4,45-4,68 cm), sin diferencias significativas entre ellas.

Se realizaron siete contrastes para la interacción (fitorregulador*dosis) en la producción y longitud de brotes (cuadro 2).

Los resultados muestran que no hubo respuesta al aplicar el BAP en las plantas, reflejado en los tres primeros contrastes (figura 3). Para el caso del GA₃ hubo diferencias significativas en los contrastes cuatro, cinco, seis y siete (cuadro y figura 2).

El cuarto contraste (GA₃) presentó diferencias altamente significativas entre las dosis con respecto al testigo, para todas las variables. Con el quinto contraste (GA₃), las diferencias se observaron en la producción de brotes con un mayor efecto al aplicar una dosis de 20 mg l⁻¹ con respecto a 5 y 10 mg l⁻¹. El sexto contraste (GA₃) muestra el mismo comportamiento con la dosis 10 mg l⁻¹ y 5 mg l⁻¹.

El efecto de la aplicación del GA₃ en todas las dosis evaluadas, resultó en un aumento significativo y creciente para la producción (Figura 3) hasta alcanzar un 18, 44 y 47 % en los brotes por planta madre, y en un 18, 38 y 33 % por metro cuadrado con longitudes de brotes de 4,95, 5,30 y 5,61 cm respectivamente. Mientras que el

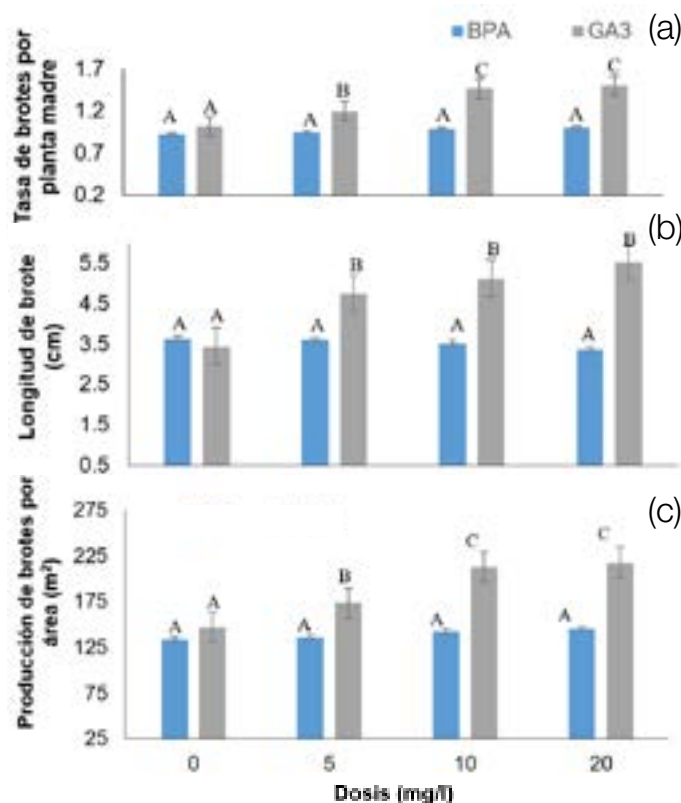


Figura 3. Efecto de las dosis del GA₃ y BAP en la tasa de brotes por planta madre, longitud de brotes y producción de brotes por área en minijardines clonales de *Tectona grandis*, San Carlos, Costa Rica.

Figure 3. Effect of GA₃ and BAP doses on shoot rate per mother plant, shoot length and shoot production per area in clonal mini-gardens of *Tectona grandis*, San Carlos, Costa Rica.

Cuadro 3. Efecto del GA₃ y BAP en la tasa y vigor de enraizamiento de mini estaquillas de *Tectona grandis*, San Carlos, Costa Rica.

Table 3. Effect of GA₃ and BAP on rooting rate and strenght of *Tectona grandis* mini cuttings, San Carlos, Costa Rica.

Fuente de Variación	Valor de p			
	Enraizamiento diario	Porcentaje enraizamiento	Índice velocidad enraizamiento	Valor enraizamiento
Fitorregulador	0,029*	0,193	0,016*	0,032*
Dosis	0,110	0,609	0,316	0,341
Fitorregulador*Dosis	0,414	0,588	0,689	0,809
Repetición (clon)	0,019*	0,617	0,179	0,019*
Fitorregulador*Repetición	0,776	0,833	0,914	0,820
Dosis*Repetición	0,7297	0,8121	0,9322	0,3787

Modelo: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_{ij} + \epsilon_{ijk}$ *p>0.95

testigo registró 1,02 brotes por planta madre, 147 brotes por metro cuadrado y 3,81 cm de longitud de brote.

El otro aspecto evaluado fue el efecto en la velocidad o vigor de enraizamiento. En el cuadro 3 se detalla el análisis de varianza de la evaluación en el proceso de enraizamiento de las mini estacas producidas en el ensayo experimental.

Se observa que el enraizamiento diario medio, índice velocidad enraizamiento y valor de enraizamiento, mostraron diferencias significativas (cuadro 3). Sin embargo, no lo hubo para el porcentaje de enraizamiento. La Repetición (clon) mostró diferencias en el enraizamiento diario medio y en el valor de enraizamiento.

En la prueba de comparación, el GA₃ demostró ser superior al BAP. Para el enraizamiento diario medio, el GA₃ presentó valores de 0,85 brotes, con un índice de velocidad de 1,30 brotes por día y un valor de enraizamiento de 0,42 unidades. En comparación con el fitorregulador BAP que presentó valores de 0,57 brotes a una velocidad de 0,83 brotes por día, y un valor de enraizamiento promedio de 0,25 unidades. El porcentaje de enraizamiento para ambos reguladores fue de casi el 100 %.

Discusión

En esta investigación, la aplicación de GA₃, obtuvo un aumento significativo en la producción y longitud de brote, en contraste con el BAP. Sin embargo, en un estudio sobre *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn en vivero [31], reportó que la aplicación de 6 mg l⁻¹ de BAP y la combinación de 6 mg l⁻¹ de GA₃ y BAP, aumentó un 300 % y 450 % el número de brotes por planta. En

propagación *in vitro* de *Prunus armenica* L. se reportó un mayor número de brotes laterales a partir del uso de BAP a razón de 4,44 µmol l⁻¹ y GA₃ 1,44 µmol l⁻¹ [32].

En propagación *in vitro* de *Gossypium barbadense* L. se reportó el efecto creciente de BPA, con explantes de mayor altura, número de hojas y entrenudos con yemas axilares [33]. En plantas *in vitro* de *Amaranthus tricolor*, se reportó un mayor vigor en la formación de plantas con una concentración de 0,20 mg l⁻¹ de BAP [34]. En propagación *in vitro* de *Tectona grandis* se reportó, que una concentración mayor a 0,5 mg l⁻¹ de BAP, obtuvo un aumento significativo en la producción de brotes con relación al control [17].

En este estudio no se encontró diferencias significativas con la aplicación de BPA en relación con el testigo. Partiendo de la fisiología de la planta, donde el meristemo apical tras su decapitación estimula la activación de yemas dormantes [35], podría explicar la rápida aparición de nuevos brotes, producto de la acción de la auxinas AIA y ANA presentes en la zona apical; y la acción exógena de la giberelina debido a su promoción de crecimiento, lo que no sucede con las citoquininas que en su mayoría son sintetizadas en la raíz, de donde son transportadas a lo largo del tallo, por lo que se podrían ver temporalmente inhibidas a corto plazo, a pesar de su incorporación [36].

En concordancia, el estudio reveló que aplicar 10 mg l⁻¹ y 20 mg l⁻¹ de GA₃ aumentó significativamente la producción y longitud del brote con respecto al testigo. Sin embargo, los brotes producidos bajo el efecto de la dosis de 20 mg l⁻¹, exhibieron una hoja de menor tamaño y un tallo más fino. Akhtar et al. [37] mencionan que altas concentraciones de este fitorregulador tiende a producir brotes delgados y alargados, lo que dificulta

su manipulación. Se ha reportado también en semilla artificial de *Physalis peruviana* L, un efecto negativo en la longitud de hoja y brote, al utilizar concentraciones altas [38]. Y en tubérculos se encontró que un aumento en la concentración del GA₃, promueve mayor producción vegetativa, pero reduce el peso del tubérculo, probablemente por la competencia por recursos. [39].

Por lo que la aplicación de 10 mg l⁻¹ de GA₃ no mostró evidencia de un efecto adverso, y favoreció el rendimiento en un 44 % en brotes por planta y 38 % en producción por metro cuadrado. Se analizó que el uso de 10 mg l⁻¹ de GA₃ implicaría un costo adicional mensual de US \$0,10 por metro cuadrado, o US \$ 0,001 por mini estaquilla.

En relación con la tasa de enraizamiento, no se determinó ningún efecto adicional al aplicar diferentes dosis de los fitorreguladores en los brotes de *Tectona grandis*. Ese mismo resultado se encontró en un estudio en propagación *in vitro* de *S. macrophylla* donde reportó que la adición de 0,5 ppm y 1 ppm de BAP, no favoreció la producción de raíces en los esquejes [40]. En experiencias de propagación vegetativa en *Orites myrtoidea*, se reportó que los mejores resultados en la formación de raíces se lograron a partir de concentraciones de AIB entre 1 000 a 4 000 ppm, sin la necesidad de agregar ácido giberélico (GA) en la solución [41].

La mayor energía de enraizamiento observada con GA₃ es un resultado que podría considerarse como esperado. La estaquilla se origina del corte del meristemo de la planta, y contiene una alta concentración de auxinas endógenas, que promoverán un rápido estímulo a la formación de raíces [42]. Por tanto, la adición de dosis de giberelina pudo complementar la acción temprana e iniciar la formación de raíces.

En un estudio sobre germinación de *Peumus boldus* MOL se determinó que sumergir las semillas en GA₃ a 10 g l⁻¹ durante 48 horas genera el valor de germinación de 0,1 unidades, siendo el más alto con respecto a los otros tratamientos [43]. En *Physalis ixocarpa* se observó que aplicar ácido giberélico incrementó significativamente la germinación presentando el IVE más alto de aproximadamente 5 semillas germinadas por día con respecto a otros ácidos como: el benzoico, salicílico y sulfosalicílico [44]. Esto se explica con que el ácido giberélico está asociado a la rápida síntesis de aminoácidos y amidas, lo cual incrementa la tasa de germinación [46].

Este estudio, evidenció diferencias del clon en la productividad, donde el clon 2 fue el genotipo que registró el mayor rendimiento. Otros investigadores mencionan que estas diferencias son parte de la variación natural

en los programas de mejoramiento genético [46]. En la productividad de especies forestales y agrícolas, se menciona la alta relación con el genotipo [24], [47], [48], como en híbridos de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii* [49]. En *Solanum lycopersicum* L. se menciona que el efecto del genotipo explica en mayor medida el rendimiento en producción clonal [50].

Finalmente, la mortalidad del ensayo se mantuvo entre 0,9 % a 5,6 %. Estos resultados estuvieron dentro de los valores utilizados en el sistema productivo [51]. La sobrevivencia fue entre un 94 % y 99 %, similares a los reportados por Badilla [24] en Brasil, donde usó varios clones de *Tectona grandis* y reportó valores entre un 94 % hasta 100 %.

Conclusiones

La aplicación de GA₃ en dosis de 10 mg l⁻¹ y 20 mg l⁻¹ aumenta la producción en un 44 y 47 % y longitud de brotes, en un 17 y 19 % respectivamente, en el minijardín clonal de *Tectona grandis* en ambiente protegido.

Aplicar 10 mg l⁻¹ de GA₃ es suficiente para aumentar el rendimiento en la productividad del minijardín.

La aplicación de BAP no mostró respuesta en el aumento de la producción de brotes del minijardín clonal de teca.

Agradecimientos

Esta investigación formó parte del proyecto de investigación “Mejoramiento del paquete tecnológico de producción clonal en ambiente protegido de *Tectona grandis* y *Cordia alliodora*”, financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Extensión y del Sistema de Posgrado, como parte del trabajo de tesis de la Maestría en Ciencias Forestales de la Escuela de Ingeniería Forestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Referencias

- [1] P. Davies, Ed., Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. New York: Springer Science & Business Media, 2013.
- [2] L. Kong and P. Von Aderkas, “Plant growth regulators and cone induction in Pinaceae”, Centre for Forest Biology, University of Victoria, Canada, 2004.
- [3] F. Alexandra and B. Dorica, “The influence of phytohormones on indirect regeneration of goji (*Lycium barbarum* L.),” J. Hortic., vol. 24, no. 1, pp. 40–45, 2020, Accessed: Jul. 19, 2021. [Online]. Available: www.journal-hfb.usab-tm.ro.

- [4] L. F. Dutra, I. Wendling, and G. E. Brondani, "A micropropagação de eucalipto.," *Pesqui. Florest. Bras.*, no. 58, pp. 49–59, 2009, Accessed: Nov. 30, 2021. [Online]. Available: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/577203>.
- [5] J. C. Cardoso, E. O. Ono, and J. D. Rodrigues, "Gibberellic acid in vegetative and reproductive development of *Phalaenopsis* orchid hybrid genus," *Hortic. Bras.*, vol. 30, no. 1, pp. 71–74, 2012, Accessed: Jul. 25, 2021. [Online]. Available: <https://www.scielo.br/j/hb/a/JygFq8SvPYvnkck8Fc54H3j/?lang=en>.
- [6] J. van Staden, E. Zazimalova, and E. . George, "Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists," in *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd ed., E. F. George, M. A. Hall, and G.-J. De Klerk, Eds. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008, p. 479.
- [7] C. C. Vale-Montilla, "Análisis de crecimiento de plántulas de caoba (*Swietenia macrophylla* King) en tratamientos con auxinas y giberelinas bajo condiciones de vivero," *Pittieria*, vol. 42, Oct., pp. 52-72, 2018.
- [8] C. B. Aucapiña Criollo and P. A. López Peña, "Definición de protocolos para el uso de fitohormonas en el crecimiento de orquídeas a nivel in vitro.," tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana, Quito, 2016.
- [9] D. W. S. Mok and M. C. Mok, Eds., *Cytokinins Chemistry, Activity, and Function*. Corvallis, Oregon: CRC Press, 1994.
- [10] N. Mohamed, R. M. Taha, U. N. A. A. Razak, and H. Elias, "The Role of Plant Growth Regulators in the Development of in vitro Flowering, Histology and Ultrastructural Studies in *Impatiens balsamina* cv. Dwarf Bush," *Planta Daninha*, vol. 36, Mar. 2018, doi: 10.1590/S0100-83582018360100013.
- [11] S. Kokkiligadda, B. Pandey, and S. R. Ronda, "Effect of plant growth regulators on production of alpha-linolenic acid from microalgae *Chlorella pyrenoidosa*," *S dhan* 2017 4210, vol. 42, no. 10, pp. 1821–1824, Oct. 2017, doi: 10.1007/S12046-017-0723-8.
- [12] Y. Maxiselly et al., "Stimulation effect of synthetic plant growth regulator (GA_3 and BAP) on young cinchona plant (*Cinchona ledgeriana*) grown in lowland," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 743, no. 1, p. 012016, May 2021, doi: 10.1088/1755-315/743/1/012016.
- [13] K. Ahmed and F. Gebretensay, "Yield and Yield Components of Potato (*Solanum tuberosum* L.) as affected by Plant Growth Regulators and Potato Varieties at Kulumsa Agricultural Research Centre, Southeastern Ethiopia," *AJSI*, vol. 4, 2019.
- [14] A. Venegas-González, V. L. Muñoz, and M. Toral-Ibañeza, "Influencia del uso de reguladores de crecimiento sobre brotes vegetativos y número de estróbilos masculinos en *Pinus pinea* L. en Chile," *Ciência Florest.*, vol. 26, no. 4, pp. 1087–1096, 2016, doi: 10.5902/1980509824997.
- [15] E. Quiala Mendoza et al., "Propagación clonal de la teca (*Tectona grandis* L.) mediante cultivo in vitro," *An. la Acad. Ciencias Cuba*, vol. 4, no. 2, pp. 4–6, Dec. 2014, Accessed: Nov. 25, 2021. [Online]. Available: <http://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/118>.
- [16] A. Abdelnour and A. Muñoz, "Micropropagación de teca (*Tectona grandis* L.f)," *Kurú: Revista Forestal*, vol. 2, no. 5, pp. 1-11, 2005.
- [17] J. P. Santos, I. Suarez Padrón, and K. C. Gatti, "Micropropagación de *Tectona grandis* L. f. A partir de meristemas preexistentes *Tectona grandis* L. f. Micropropagation from preexisting meristems," 2013.
- [18] Y. Badilla, A. Xavier, O. Murillo, and H. N. De Paiva, "IBA efficiency on mini-cutting rooting from teak (*Tectona grandis* Linn F.) clones," *Rev. Arvore*, vol. 40, no. 3, pp. 477–485, May 2016, doi: 10.1590/0100-67622016000300011.
- [19] O. Murillo, Y. Badilla-Valverde, and S. Barboza-Flores, "Costos de producción en ambiente protegido de clones para reforestación," *Rev. For. Mesoam. Kurú (Julio-Diciembre)*, vol. 15, no. 37, pp. 15–24, 2018, doi: 10.18845/rfmk.v15i37.3597.
- [20] A. Xavier, I. Wendling, and R. L. da Silva, *Clonal forestry: principles and techniques*. Viçosa, Brasil: Publisher UFV, 2013.
- [21] Instituto Meteorológico Nacional, "Estación Automática del TEC, Sede Santa Clara, San Carlos, Alajuela," *Condiciones Actuales del Tiempo*, 2021. <https://www.imn.ac.cr/especial/estacionStaClara.html> (accessed Nov. 03, 2021).
- [22] L. Holdridge, *Ecología basada en zonas de vida*, IICA. San José, 1982.
- [23] Instituto Meteorológico Nacional, "Clima en Costa Rica," Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica, 2014. http://www.imn.ac.cr/educacion/CLIMA_DE_COSTA_RICA.html.
- [24] Y. Badilla, "Clonagen de *Tectona grandis* Linn F. por estaquia e miniestaquia," M.S. dissertacao, Universidad Federal de Vicosá, Brasil, 2014.
- [25] O. Murillo, M. Espitia, and C. Castillo, *Fuentes Semilleras para la Producción Forestal*, 1°. Bogotá, Colombia: Editorial Domar S.A.S, 2012.
- [26] A. Cunha de Barcellos, "Fitorreguladores de Crescimento em Algodoeiro," *Embrapa Agric. Digit.*, pp. 1–5, 2014, Accessed: Nov. 07, 2021. [Online]. Available: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/998971/1/COT373.pdf>.
- [27] F. J. Czabator, "Germination Value: An Index Combining Speed and Completeness of Pine Seed Germination," *For. Sci.*, vol. 8, no. 4, pp. 386–396, Dec. 1962, doi: 10.1093/FORRESTSCIENCE/8.4.386.
- [28] M. Espitia, C. Cardona, and H. Araméndiz, "Pruebas de germinación de semillas de forestales nativos de Córdoba, Colombia, en laboratorio y casa-malla," *Rev. U.D.C.A Act Div Cient*, vol. 19, no. 2, pp. 307–315, 2016, Accessed: Mar. 06, 2022. [Online]. Available: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262016000200007.
- [29] L. González-Zertuche and A. Orozco-Segovia, "Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*," *Bot. Sci.*, no. 58, pp. 15–30, Aug. 1996, doi: 10.17129/BOTSCI.1484.
- [30] D. Maguire, "Speed of germination-Aid in selection and

- evaluation for seedling emergence and vigor," *Crop Sci.*, vol. 2, no. 1, pp. 176–177, 1962.
- [31] A. M. Castillo-González, L. A. Valdez-Aguilar, and E. Avitia-García, "Response of *lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* [Raf.] Shinn) to applications of growth regulators," *Acta Hortic.*, vol. 1263, pp. 241–244, 2019, doi: 10.17660/ACTAHORTIC.2019.1263.31.
- [32] A. Zare Khafri, M. Solouki, R. Zarghami, B. Fakheri, N. Mahdinezhad, and M. Naderpour, "In vitro propagation of three Iranian apricot cultivars," *Vitr. Cell. Dev. Biol. - Plant* 2020 571, vol. 57, no. 1, pp. 102–117, Sep. 2020, doi: 10.1007/S11627-020-01112-W.
- [33] S. E. López-Medina, J. Mostacero-León, A. López-Zavaleta, A. E. Gil-Rivero, and A. J. D. La Cruz-Castillo, "Propagación in vitro de *Gossypium barbadense* L. "algodón nativo" de fibra marrón," *Agroindustrial Sci.*, vol. 10, no. 3, pp. 235–239, Dec. 2020, doi: 10.17268/AGROIND.SCI.2020.03.03.
- [34] S. M. Tahir and J. Y. Mathew, "Effects of varying concentrations of plant growth regulators on the in vitro propagation of *Amaranthus* (*Amaranthus tricolor* L.)," *Sci. World J.*, vol. 16, no. 2, pp. 183–188, Jul. 2021, Accessed: Jul. 13, 2021. [Online]. Available: <https://www.scienceworldjournal.org/article/view/21789>.
- [35] S. Shimizu-Sato and H. Mori, "Control of outgrowth and dormancy in axillary buds," *Plant Physiol.*, vol. 127, no. 4, pp. 1405–1413, 2001, doi: <http://doi.org/10.1104/pp.010841>.
- [36] L. Delgado García and R. Hoyos Sánchez, "Multiplicación clonal in vivo e in vitro de la especie forestal nativa *Aniba perutilis* Hemsl," *Acta Agronómica*, vol. 65, no. 2, pp. 190–196, 2016, doi: <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v65n2.42808>.
- [37] D. Akhtar et al., "Regeneration of Potato Plantlets Through Shoot Tip Culture Comparison Between GA₃ and BAP," *American Journal of Biology and Life Sciences*, vol. 5, no. 3, pp. 13–20, 2017.
- [38] B. B. Yücesan, A. Mohammed, M. Arslan, and E. Gürel, "Clonal propagation and synthetic seed production from nodal segments of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.), a tropical fruit plant," *Turkish J. Agric. For.*, vol. 39, pp. 797–806, 2015, doi: 10.3906/tar.1412-86.
- [39] E. C. da Silva, C. de A. Pinto, J. A. C. de Souza-Dias, and T. H. de Araújo, "Uso de reguladores de crecimiento em brotos destacados de batata-mente," *Hortic. Bras.*, vol. 29, no. 4, pp. 504–509, Oct. 2011, doi: 10.1590/S0102-05362011000400010.
- [40] J. Campos Ruiz, "Propagación in vitro de *Swietenia macrophylla* King utilizando ácido Naftalenacético (ANA) y Bencilaminopurina (BAP)," M. S. tesis, Universidad Nacional de Trujillo, Perú, 2019.
- [41] F. Schiappacasse, C. Peña, P. Peñailillo, F. Schiappacasse, C. Peña, and P. Peñailillo, "Orites myrtoidea (Proteaceae): efecto de estratificación fría en germinación de semillas y ácido indol butírico en enraizamiento de estacas," *Gayana. Botánica*, vol. 76, no. 2, pp. 168–175, Dec. 2019, doi: 10.4067/S0717-66432019000200168.
- [42] E. George, M. Hall, and G. De Clerck, *Plant propagation by tissue culture, 3 rd. The Background*, 2008.
- [43] M. Rodríguez Crespillo, "Efecto del ácido giberélico (GA₃) y tiempo de remojo sobre la germinación de semillas de Boldo (*Peumus boldus* Mol.)," tesis pregrado, Universidad de Talca, Chile, 1997.
- [44] H. T. García-Osuna, L. Escobedo Bocardo, V. Robledo-Torres, A. Benavides Mendoza, and F. Ramírez Godina, "Germinación y micropropagación de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*) tetraploide," *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas*, no. 12, pp. 2301–2311, Jan. 2018, doi: 10.29312/REMEXCA.V0112.763.
- [45] P. Gupta and D. Mukherjee, "Influence of GA₃ pre-soaking of seeds on biochemical changes in seedling parts of *Pennisetum typhoides* Rich.," *Proceedings of the Indian National Science Academy*, vol. 48, no. 5, pp. 642–648, 1982.
- [46] M. Resende, O. Murillo, and Y. Badilla, *Genética cuantitativa y selección en el mejoramiento forestal*. Cartago, Costa Rica: Editorial Tecnológica de Costa Rica, 2018.
- [47] J. R. Mejía Salazar, D. F. Nieto Sierra, S. L. Mejía Kerguelen, M. Arango, E. Burbano Erazo, and I. D. J. Higueta Corrales, "Evaluación agronómica y nutricional de genotipos de *Chloris gayana* para la ganadería Colombiana," *Agron. Mesoam.*, pp. 382–398, May 2021, doi: 10.15517/AM.V32I2.44042.
- [48] Gamboa-Tabares et al., "Evaluación agronómica de genotipos de *Theobroma cacao* L. en la Amazonia colombiana," *Biotecnol. en el Sect. Agropecu. y Agroindustrial*, vol. 19, no. 1, pp. 244–255, Aug. 2021, doi: 10.18684/BSAA.V19.N1.2021.1619.
- [49] G. Ebling Brondani, I. Wendling, F. Grossi, L. Ferreira Dutra, and M. A. Araujo, "Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunni*: (i) sobrevivência de minicepas e produção de miniestacas em função das coletas e estações do ano," *Ciência Florest.*, vol. 22, no. 1, pp. 11–21, 2012, Accessed: Nov. 25, 2021. [Online]. Available: <https://web.a.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authType=crawler&jrnl=01039954&AN=87020526&h=DIUHLkAo%2BaDCnSlggHWfning3a>
- [50] H. A. Cordoba-Novoa, S. V. Gómez, and C. E. Núñez, "Evaluación del rendimiento y fenología de tres genotipos de tomate cherry (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones de invernadero," *Rev. Colomb. Ciencias Hortícolas*, vol. 12, no. 1, pp. 113–125, May 2018, doi: 10.17584/RCCH.2018V12I1.7348.
- [51] O. Murillo, Y. Badilla, M. Villalobos, and F. Rojas-Parajeles, "Optimización de la tecnología de propagación vegetativa in vivo y plantación de teca y pílón," Cartago, Costa Rica, 2013. [Online]. Available: https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/3243/optimizacion_tecnologia_propagacion_vegetativa_in_vivo.pdf?sequence=1&isAllowed=y.