

Propagación *in vitro* de explantes de Teca obtenidos a partir de semillas

Daymí Ramírez Aguilar*, Daniel Agramonte Peñalver, Odalys Gutiérrez Martínez, Raúl Barbón, Martha Pérez Peralta, Raúl Collado, Felipe Jiménez Terry. *Autor para correspondencia.

Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54830. e-mail: dagramonte@ibp.co.cu

RESUMEN

Las plantas de teca pueden cultivarse a partir de semillas, las cuales son muy importantes para mantener una amplia base genética. El grueso y duro pericarpio obstaculiza la germinación y una parte considerable de las semillas frescas permanecen latentes durante el primer año. Es por ello que la aplicación de las técnicas de cultivo de tejidos constituye una valiosa herramienta para la obtención de plantas de teca a partir de semillas. El presente trabajo persiguió como objetivo germinar *in vitro* semillas de teca, establecer las condiciones y medios de cultivo para su multiplicación y evaluar la posibilidad del enraizamiento *ex vitro*. Se colocaron las semillas en un medio de cultivo compuesto por las sales MS suplementado con 6-Bencilaminopurina (6-BAP). Las plantas germinadas fueron subcultivadas en diferentes medios de cultivo para la multiplicación con varias concentraciones de 6-BAP y de Kinetina (KIN). Además, se evaluó el tiempo de subcultivo, el tipo de manejo a realizar con los explantes y el estado físico del medio de cultivo, y en la fase de enraizamiento se estudió la factibilidad del enraizamiento *ex vitro*. Como resultado se obtuvo que el empleo del 6-BAP y la KIN a razón de 2.0 y 0.5 mg.l⁻¹ respectivamente permitieron la formación de un mayor número de brotes y un mayor coeficiente de multiplicación, además se comprobó que los subcultivos se deben realizar cada 28 días en medio de cultivo en estado semisólido, y que el manejo que aportó mayor coeficiente de multiplicación consistió en la separación de los brotes y seccionado de los explantes mayores de 2.5 cm en dos partes. Se comprobó además la posibilidad del enraizamiento *ex vitro*.

Palabras clave: manejo de los explantes, medios de cultivo, multiplicación, *Tectona grandis*

ABSTRACT

The teak plants can be cultivated starting from seeds, which are very important to maintain wide genetics base. The thick and hard pericarp blocks the germination and a considerable part of the fresh seeds remain latent during the first year. Therefore the application of the tissue culture techniques constitutes a valuable tool for the obtaining of teak plants starting from seeds. The objective of the present work was to germinate *in vitro* teak seeds, to establish the conditions and culture medium for its multiplication and to evaluate the possibility of the *ex vitro* rooting. The seeds were placed in a culture medium composed by the salts MS and 6-Bencilaminopurina (6-BAP). The germinated plants were subcultivated in different culture medium for the multiplication with several concentrations of 6-BAP and of Kinetin (KIN). The time of subculture, the handling type to be carried out with the explants and the physical state of the culture medium also, was evaluated, and in the rooting phase the feasibility of the *ex vitro* rooting was studied. The employment of the 6-BAP and the KIN to reason of 2.0 and 0.5 mg.l⁻¹ respectively allowed the formation of a bigger number of buds and a bigger multiplication coefficient, in addition it was obtained that the best time of subculture was every 28 days using culture medium in semisolid state, and the handling that contributed to the biggest multiplication coefficient consisted on the separation of the buds and cut of the explants bigger than 2.5cm in to two parts. Also the possibility *ex vitro* rooting was proven.

Keywords: culture medium, management of explants, multiplication, *Tectona grandis* L.

INTRODUCCIÓN

La teca (*Tectona grandis* L.) es una de las especies arbóreas tropicales más estudiadas y cultivadas. Tewari (1992) hizo referencia a la existencia de más de 4 000 trabajos realizados durante más de 150 años que abarcaban diferentes aspectos. Las primeras plantaciones de teca se realizaron hace más de 150 años en la India y Myanmar (FAO, 1993). Hasta el año 1970 la teca era una de las más importantes especies de plantación en varios países tropicales

(Evans, 1992), pero con el crecimiento de la industria de la pasta papelera la atención se desvió sobre todo hacia las plantaciones de rápido crecimiento de *Eucalyptus* y Acacias. La teca se sitúa entre las cinco primeras especies de frondosas tropicales por la superficie de plantación en todo el mundo que asciende a 980 000ha y de ellas corresponden a América tropical 33 000 repartidas principalmente por Costa Rica, Trinidad y Tobago, Panamá, El Salvador, Colombia, Guatemala, Venezuela y Ecuador (Kriswhnapillay, 2001).

La teca ha mantenido, además, su posición privilegiada entre las especies de frondosas tropicales gracias a sus cualidades de fortaleza, durabilidad, idoneidad para la talla y aspecto (Sangkul, 1998). Es empleada con fines decorativos por el veteado de la madera (Zamora, 1998).

Las plantas de teca pueden cultivarse a partir de semillas o de tejidos vegetativos, tocones, esquejes, etc. Las plantas obtenidas de semillas recogidas al azar suelen presentar una gran variabilidad de crecimiento, mientras que la propagación vegetativa mediante esquejes y el cultivo de tejidos permite producir materiales vegetales uniformes de la calidad deseada. No obstante, las semillas son muy importantes para mantener una amplia base genética. Para obtener materiales de siembra razonablemente uniformes a partir de semillas, hay que establecer viveros de plántulas o huertos de semillas clonales de árboles de buena calidad. Sin embargo, no se dispone en cantidad suficiente de material vegetal de siembra de la calidad deseada y de origen genético conocido. Hay una importante demanda de material vegetal de siembra de buena calidad para programas de plantación en varios países (Krishnapillay, 2001).

La teca comienza a florecer y producir semillas a una edad temprana de 20 años después de haber sido plantadas y 10 años tras el rebrote de cepa y continúa produciéndolas prácticamente todos los años. El grueso y duro pericarpio de la semilla obstaculiza la germinación y una parte considerable de las semillas frescas permanecen latentes durante el primer año (Pandey y Brown 2001). Es por ello que la obtención de plantas de teca a partir de semillas y con el uso del cultivo de tejidos constituye una alternativa valiosa para la obtención de grandes volúmenes de plantas en corto plazo de tiempo lo cual, además, puede contribuir con los requerimientos de este material vegetal para la reforestación del país.

Teniendo en cuenta esta problemática se realizó la investigación con el objetivo de: germinar *in vitro* semillas de teca, establecer las condiciones y medios de cultivo para su multiplicación y evaluar la posibilidad del enraizamiento *ex vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desinfección

Se colectaron frutos secos de árboles ubicados en el área experimental, perteneciente a la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Posteriormente se trasladaron a condiciones de laboratorio, se les eliminó el pericarpio y se extrajeron de su interior las semillas. Estas fueron desinfectadas cumpliendo el procedimiento siguiente: se sumergieron en una solución de detergente comercial, se enjuagaron con agua

desionizada estéril, luego se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 10 minutos y se mantuvieron en agitación constante y nuevamente se les dio tres enjuagues con agua desionizada estéril en una cabina de flujo laminar.

Para lograr la germinación de las semillas se empleó de un medio de cultivo compuesto por las sales de Murashige y Skoog (MS) (1962), 0.5 mg.l⁻¹ de 6-BAP y 2.0% de sacarosa en estado semisólido, con agar (0.7%) como agente gelificante. Se utilizaron tubos de ensayo y se colocaron dos semillas en cada uno.

Procedimientos generales

Para los experimentos realizados se emplearon las plantas germinadas *in vitro* a través del procedimiento explicado anteriormente. En todos los casos el pH se ajustó a 5.8.

En los diferentes ensayos efectuados que se describen a continuación se realizaron diez repeticiones por tratamiento y se colocaron diez explantes por frasco de policarbamato de 500 ml de capacidad, a los cuales se les añadieron 50ml del medio de cultivo. Se evaluaron tres subcultivos consecutivos en cada experimento a los 28 días de subcultivo, teniendo en cuenta la formación de brotes, coeficiente de multiplicación y número de entrenudos por planta así como la altura de las plantas (cm).

Comparación de diferentes tipos de medios de cultivo en la fase de multiplicación de la teca

Para la realización de este experimento se conformaron cuatro variantes de medios de cultivo, con diferencias en cuanto a la composición de los mismos, la variante cuatro con medio de cultivo propuesto por Daquinta (2000) para la multiplicación constituyó el tratamiento control.

- 1.- Medio para plantas leñosas + Vitaminas MS.
- 2.- MS con 50% de macronutrientes + Vitaminas MS.
- 3.- MS con los macronutrientes libres de NH₄NO₃ + 6BAP 1.0mg.l⁻¹ + KIN 0.5mg.l⁻¹
- 4.- Control (MS 100 %+ 6BAP 1.0mg.l⁻¹ + KIN 0.5mg.l⁻¹).

Evaluación de diferentes citoquininas en el medio de cultivo para la multiplicación de la teca

Se tomaron los explantes procedentes del medio de cultivo que aportó los mejores resultados en el experimento anterior. Se evaluaron tres concentraciones de 6BAP (1.5; 2.0; 2.5) mg.l⁻¹ y tres de KIN (0.0; 0.5 y 1.0) mg.l⁻¹.

Comparación de diferentes tipos de manejos en los explantes para la multiplicación *in vitro*

Para la realización de este ensayo, se partió de los resultados obtenidos en el experimento anterior en cuanto a la composición del medio de cultivo empleado, pero se utilizaron explantes procedentes del tercer subcultivo de multiplicación que se desarrollaron teniendo en cuenta todos los resultados obtenidos en los experimentos anteriores, dado que el material vegetal ya se encontraba en un sexto subcultivo de multiplicación por lo que no constituían el material vegetal más apropiado para obtener resultados confiables en los subsiguientes experimentos.

A los explantes se les realizaron tres tipos de manejos diferentes para obtener mayor coeficiente de multiplicación por planta así como un mayor desarrollo de los explantes en la fase de multiplicación. En las tres variantes comparadas se tuvo en cuenta la separación de los brotes que habían formado los explantes en el momento del subcultivo, además se le eliminaron las hojas necrosadas y el callo basal en el caso que existiera. Los diferentes tipos de manejos empleados se describen a continuación:

1. Se transfirieron las plantas que poseían una altura mayor o igual a 2.0cm, a estas plantas no se les realizó ningún tipo de corte.
2. Se transfirieron las plantas que poseían una altura inferior a los 2.0cm, a estas plantas no se les realizó ningún tipo de corte, fueron consideradas como las plantas más pequeñas.
3. Se transfirieron las plantas que poseían una altura superior a los 2.5cm, pero fueron seccionadas a la mitad colocando los segmentos superiores e inferiores en frascos de cultivo diferentes.

Efecto del tiempo de subcultivo sobre el crecimiento de las plantas *in vitro* en medio de cultivo de multiplicación semisólido

Este experimento tuvo como objetivo evaluar el momento o el número de días que debe durar un subcultivo para efectuar la transferencia de los explantes a medios de cultivo frescos, teniendo en cuenta que es una especie forestal cuyo desarrollo *in vitro* es lento. Para ello se realizaron comparaciones en cuanto al número de brotes formados, y el coeficiente de multiplicación por planta así como la altura de los explantes al cabo de 21, 28 y 35 días. En este ensayo se tomaron otros explantes procedentes del tercer subcultivo de multiplicación, desarrollados según los resultados que se iban obteniendo en los experimentos anteriores.

Comparación de diferentes estados físicos del medio de cultivo para la fase de multiplicación de plantas *in vitro* de teca

Este experimento tuvo como objetivo establecer una comparación entre diferentes estados físicos del medio de cultivo para la multiplicación de los brotes, tomando

nuevos explantes procedentes del tercer subcultivo de multiplicación y que desarrollaron teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los experimentos anteriores. Los tratamientos evaluados quedaron estructurados de la siguiente manera:

1. Medio de cultivo en estado semisólido.
2. Medio de cultivo en estado líquido estático.

Factibilidad del enraizamiento *ex vitro* de los explantes de teca

Se comprobó la posibilidad de enraizar *ex vitro* los explantes de teca, colocándolos en contenedores de polietileno de 70 alvéolos en la fase de aclimatización en un sustrato compuesto por casting 85% y zeolita 15%. El riego se realizó durante los primeros cinco días 30 segundos cada 1.5 horas y después 30 segundos cada tres horas, y se evaluó el índice de supervivencia a los 30 días.

Procesamiento estadístico de los datos

Los datos del experimento sobre la evaluación de diferentes citoquininas en el medio de cultivo se procesaron mediante un análisis de varianza bifactorial cumpliendo con los parámetros de distribución normal y homogeneidad de varianza.

Los datos de los experimento restantes fueron procesados por análisis de varianza de clasificación simple. Las diferencias entre las medias fueron determinadas mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan para el 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desinfección

Con el método de desinfección empleado se logró un 90% de explantes libres de contaminantes microbianos visibles.

Las semillas germinaron a los 15 días en un 72%, y se desarrollaron plantas de gran vigor y con una coloración verde intensa (Figura 1).

Comparación de diferentes tipos de medios de cultivo en la fase de multiplicación de la teca

En la comparación de diferentes variantes de medio de cultivo para lograr la multiplicación de los explantes de teca (Tabla 1) los mejores resultados en todos los indicadores evaluados se alcanzaron con el tratamiento control (MS 100 % + 6BAP 1.0mg.l⁻¹ + KIN 0.5mg.l⁻¹), este medio de cultivo proporcionó los mejores resultados para la multiplicación de brotes de teca a partir de meristemas apicales (Daquinta *et al.*, 2000). El medio de cultivo basal compuesto por las sales de MS (1962), ha sido el más frecuentemente utilizado y se ha referido su empleo en la mayoría de las especies propagadas *in vitro* (Jiménez, 1998).



Figura 1. Plantas *in vitro* de Teca procedentes de semillas en fase de establecimiento.

Tabla 1. Comparación de diferentes variantes de medios de cultivo para la multiplicación de explantes de teca.

Tratamientos	Número de brotes por frasco	Coefficiente de Multiplicación por explante	Número de entrenudos por explante	Altura de las plantas (cm)
Medios para plantas leñosas+ Vitaminas MS	5.7 d	0.8 b	1.97 c	2.3 b
MS con 50% de macronutrientes + Vitaminas MS	7.6 c	1.7 b	2.5 b	2.7 b
MS con los macronutrientes libres de NH_4NO_3 + 6BAP 1.0mg.l^{-1} + KIN 0.5mg.l^{-1} .	9.1 b	0.8 b	1.47 c	1.7 c
MS 100 % + 6BAP 1.0mg.l^{-1} + KIN 0.5mg.l^{-1} .	27.3 a	2.4 a	3.2 a	4.8 a

Medias con letras distintas en una columna difieren estadísticamente ($p < 0.05$), según la prueba de rangos múltiples de Duncan. En cada indicador se muestran el valor medio de tres subcultivos evaluados.

En las variantes de medio de cultivo compuestos por Medios para plantas leñosas + Vitaminas MS; MS con 50% de macronutrientes + Vitaminas MS y MS con los macronutrientes libres de NH_4NO_3 + 6BAP 1.0mg.l^{-1} + KIN 0.5mg.l^{-1} , empleadas para la multiplicación de explantes de teca hubo una degeneración de los brotes al utilizarlos en sucesivos subcultivos y se perdió con ello incluso la capacidad de multiplicación *in vitro*, estos sucesos han sido descritos por Viétez y Viétez (1982) los cuales realizaron modificaciones similares a la variante donde se empleó MS con los macronutrientes libres de NH_4NO_3 en otras especies forestales.

Evaluación de diferentes citoquininas en el medio de cultivo para la multiplicación de la teca

En la evaluación de diferentes concentraciones de 6-BAP y KIN en el medio de cultivo para la multiplicación de los explantes se pudo comprobar que el mejor comportamiento en todos los indicadores evaluados y con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos estudiados se obtuvo cuando se le aplicó al medio de cultivo el 6-BAP y la KIN a razón de 2.0 y 0.5mg.l^{-1} (Tabla 2). En el tratamiento 7 (1.0mg.l^{-1} 6-BAP + 0.5mg.l^{-1} KIN) donde se evaluó el medio de cultivo propuesto por Daquinta *et al.* (2000)

se encontró una disminución significativa en cada indicador evaluado.

El empleo de ambas citoquininas, en diferentes concentraciones para el establecimiento y multiplicación de la teca, ha sido referido por varios autores (Naguada *et al.*, 1997; Kondurkor *et al.*, 1999; Daquinta *et al.*, 2001 y Murillo, 2002).

Comparación de diferentes tipos de manejos en los explantes para la multiplicación *in vitro*

En la comparación de diferentes tipos de manejos en la fase de multiplicación se puede señalar que el tratamiento donde se transfirieron las plantas que poseían una altura superior a los 2.5cm , cuando fueron éstas seccionadas a la mitad y se colocaron los segmentos superiores e inferiores en frascos de cultivos diferentes, tuvieron un mejor comportamiento en todos los indicadores evaluados con diferencias significativas respecto a los restantes tipos de manejos aplicados al material vegetal. Con estos resultados se puso de manifiesto una vez más la importancia que tiene en esta fase el tratamiento dado a los explantes en cuanto a la forma de corte, ya que tiene este factor marcada influencia en el número de brotes nuevos formados y en el coeficiente de multiplicación obtenidos en cada subcultivo.

Tabla 2. Comparación de diferentes concentraciones de 6-BAP y de KIN en el medio de cultivo para la multiplicación de explantes de teca.

Tratamientos	Número de brotes por planta	Número de entrenudos por planta	Altura de las plantas (cm)
1(1.5mg.l ⁻¹ 6-BAP + 0.0mg.l ⁻¹ KIN)	1.65 bc	1.99 d	3.15 bc
2(2.0mg.l ⁻¹ 6-BAP + 0.0mg.l ⁻¹ KIN)	1.79 b	2.24 c	3.50 b
3(2.5mg.l ⁻¹ 6-BAP + 0.0mg.l ⁻¹ KIN)	1.59 c	2.28 bc	3.13 b
4(1.5mg.l ⁻¹ 6-BAP + 0.5mg.l ⁻¹ KIN)	1.70 b	1.80 e	3.15 b
5(2.0mg.l ⁻¹ 6-BAP + 0.5mg.l ⁻¹ KIN)	2.55 a	3.25 a	3.82 a
6(2.5mg.l ⁻¹ 6-BAP + 0.5mg.l ⁻¹ KIN)	1.65 c	2.05 d	3.30 b
7(1.0mg.l ⁻¹ 6-BAP + 0.0mg.l ⁻¹ KIN)	1.88 b	2.40 b	3.60 a

Medias con letras distintas en una columna difieren estadísticamente ($p < 0.05$) según la prueba de rangos múltiples de Duncan. En cada indicador se representa el valor medio de tres subcultivos evaluados.

Tabla 3. Comparación de diferentes tipos de manejos realizados a explantes de teca para la multiplicación *in vitro*.

Tratamientos	Número de brotes por planta	Número de entrenudos por planta	Altura de las plantas (cm)
1* (Planta entera, mayores o iguales que 2.0 cm)	2.0 b	3.6 b	3.4 b
2** (Planta entera, menores que 2.0 cm)	1.6 c	3.5 b	3.3 b
3*** (Plantas mayores de 2.5 cm, que fueron seccionadas en dos)	2.5 a	4.1 a	5.4 a

Medias con letras distintas en una columna difieren estadísticamente ($p < 0.05$) según la prueba de rangos múltiples de Duncan. En cada indicador se representa el valor medio de tres subcultivos evaluados.

1* Se transfirieron las plantas que poseían una altura mayor o igual a 2.0cm, a estas plantas no se les realizó ningún tipo de corte.

2** Se transfirieron las plantas que poseían una altura inferior a los 2.0cm, a estas plantas no se les realizó ningún tipo de corte, fueron consideradas como las plantas más pequeñas.

3*** Se transfirieron las plantas que poseían una altura superior a los 2.5cm, pero fueron seccionadas a la mitad colocando los segmentos superiores e inferiores en frascos de cultivos diferentes.

Las plantas que no fueron seccionadas mostraron un crecimiento lento y un escaso coeficiente de multiplicación, se limitaron a crecer. Las plantas seccionadas formaron nuevos brotes en la base y en las axilas independientemente de la procedencia del segmento de tallo o sea si correspondía a la parte inferior o a la superior de la planta. Este es un aspecto positivo para lograr la multiplicación de los brotes con mayores coeficientes de multiplicación.

Efecto del tiempo de subcultivo sobre el crecimiento de las plantas *in vitro* en medio de cultivo de multiplicación semisólido

En los resultados obtenidos en la evaluación realizada a los explantes de teca en la fase de multiplicación para determinar la duración del tiempo de subcultivo, se pudo observar que no hubo diferencias estadísticas en ninguno de los tres indicadores evaluados, a pesar de ello los resultados alcanzados con 28 y

35 días fueron superiores a los obtenidos con solo 21 días de cultivo (Tabla 4).

Con el aumento del número de días hubo un incremento de los valores de las variables evaluadas altura de las plantas y número de entrenudos, sin embargo dado el tipo de manejo que se les practica a los explantes, según los resultados obtenidos en el experimento donde tuvo lugar este estudio, las plantas que superaban los 2.5 cm de altura se seccionan en dos segmentos por lo que el incremento de la altura y del número de entrenudos no permitió el incremento del número de brotes o del coeficiente de multiplicación.

Aunque no hubo diferencias en los valores obtenidos en cuanto al número de brotes por planta, esta variable si influyó directamente en el coeficiente de multiplicación. Por lo que se deben realizar los subcultivos en el momento adecuado, es por ello que se sugiere la realización de subcultivo a los 28 días.

Tabla 4. Efecto del tiempo de subcultivo en la fase de multiplicación para los explantes de teca.

Tratamientos	Número de brotes por planta	Número de entrenudos por planta	Altura de las plantas (cm)
1 (21 días)	2.6	2.0	2.7
2 (28 días)	2.9	2.3	2.9
3 (35 días)	2.9	2.5	3.1

En cada indicador se representa el valor medio de los tres subcultivos realizados.

Comparación de diferentes estados físicos del medio de cultivo para la fase de multiplicación de plantas *in vitro* de teca

En la comparación de diferentes estados físicos del medio de cultivo para la fase de multiplicación se observó que no hubo influencia de estos, en el número de brotes por planta. Sin embargo, los explantes que se colocaron en el medio de cultivo en estado líquido estático alcanzaron mayor altura y un mayor número de entrenudos por planta (Tabla 5). Con el incremento

del número de subcultivos se eliminó un mayor número de plantas del proceso pues presentaban síntomas de hiperhidricidad y gran deformación. La presencia de estas características en las plantas constituyó un aspecto negativo porque influyó en la disminución del número de brotes por planta. A pesar de existir un incremento en las variables anteriormente referidas con el empleo del medio de cultivo en estado líquido estático, el número de brotes promedio logrado en los tres subcultivos realizados fue similar al obtenido con el empleo del medio de cultivo en estado semisólido.

Tabla 5. Comparación de diferentes estados físicos del medio de cultivo para la fase de multiplicación de plantas *in vitro* de teca.

Tratamientos	Número de brotes por planta	Número de entrenudos por planta	Altura de las plantas (cm)
1 (Medio de cultivo en estado semisólido)	2.5 a	3.3 b	1.9 b
2 (Medio de cultivo en estado líquido estático)	2.5 a	4.8 a	3.8 a

Medias con letras distintas en una columna difieren estadísticamente ($p < 0.05$) según la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Los medios de cultivo para la propagación de plantas, en su gran mayoría, son utilizados en estado semisólido; sin embargo, el empleo de los medios de cultivo líquidos ofrece numerosas ventajas pero tiene como limitante que no todas las especies responden igual en cuanto al crecimiento, ni todos los genotipos dentro de una misma especie se comportan de igual manera (Epp, 1987).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se sugiere el empleo de los medios de cultivo para la fase de multiplicación de explantes de teca en estado semisólido.

Factibilidad del enraizamiento *ex vitro* de explantes de teca

Las plantas que se utilizaron en la realización de los diferentes experimentos fueron llevadas a condiciones *ex vitro* sin transferirlas a la fase de enraizamiento, y se obtuvo a los 30 días un porcentaje de supervivencia del 80%, lo que denotó que aunque es factible llevar a cabo el enraizamiento *ex vitro* con plantas de teca se deben continuar los estudios para buscar incrementos en este indicador.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados alcanzados se pudo arribar a las siguientes conclusiones:

- El medio de cultivo compuesto por las sales MS + 2.0mg.l⁻¹ 6BAP + 0.50mg.l⁻¹ KIN+ 2% sacarosa favoreció el incremento de las variables formación de brotes por planta, altura de las plantas y número de entrenudos por planta, lo que constituyó un aspecto positivo para lograr la micropropagación de explantes de teca a partir de semillas.

- El manejo que permitió un mayor desarrollo de las plantas *in vitro* consistió en la transferencia de las plantas con una altura superior a los 2.5 cm, colocando los segmentos superiores e inferiores en frascos de estas plantas seccionadas a la mitad en cultivos diferentes, y el empleo del medio de cultivo para la fase de multiplicación en estado semisólido y el subcultivo a los 28 días.

REFERENCIAS

- Daquinta, M, Ramos L, Lezcano Y, Rodríguez R, Escalona M (2000) Algunos elementos en la micropropagación de la Teca.
- Epp, MD (1987) Somaclonal variation in banana: A case study with Fusarium wilt. En: Persley, G J y Delanghe, E

- (Eds). Bananas and Plantain Breeding Strategies. ACIAR Proceeding (21): 187
- Evans, J (1992) Plantation forestry in the tropics. Oxford, Reino Unido, Clarendon Press
- Kendunkor, SV, Nadgauda, RS y Von Arnolds (1999) Studies on cryopreservation of teak (*Tectona grandis*) a tropical hard wood trees. Abstracts of International tree Biotechnology meeting, pp 53-57. India
- FAO, (1993) Teak –a plundered world heritage. Occasional Paper No. 8. Bangkok, Oficina regional de la
- Kriswhnapillay, B (2001) Estrategias de ordenación y requisitos ecológicos para mejorar el crecimiento y la calidad del árbol de teca en plantaciones. Unasyuva No. 201 Teca
- Nadgauda, RS, Kendunkor SV, KulKarni V y Mascareñas AF (1997) Advances in micropropagation of teak IUFRO Symposium-97
- Murashige, T y Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Plant Physiol 15: 473-497
- Murillo, MV (2002) Propagación vegetativa de Teca por cultivo de tejidos *in vitro* Revista El Mueble y la Madera. Septiembre-Noviembre 21: 45-46
- Pandey, D y Brown, C (2001) Una visión general de los recursos mundiales de teca y de los elementos que influyen en sus perspectivas de futuro. Unasyuva. No. 201-Teca
- Sangkul, S (1998) Processing and development technology and future trends for teak utilization. En: Teak for the future. Proceedings of the Second Regional Seminar on Teak, Yangon, 29 de mayo – 3 de Junio de 1995, p. 123-130 Bangkok, Oficina Regional de la FAO para Asia y el Pacífico. Knowledge report: 628-640. París, UNESCO
- Tewari, DN (1992) A monograph on teak. Dehra Dun, India, Indian Council of Forestry Research and education, International Book Distributors
- Zamora, N (1998) Experiencias de comercialización de teca en Costa Rica. San José, Costa Rica, Unidad de comercialización, Cámara Costarricense Forestal