



“Por un Desarrollo  
Agrario  
Integral y Sostenible”

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

## FACULTAD DE AGRONOMÍA

### Trabajo de Tesis

Micropropagación de Teca (*Tectona grandis*  
Linn F.) en Biorreactores Económicos de  
Inmersión Temporal, 2021- 2022

#### Autores

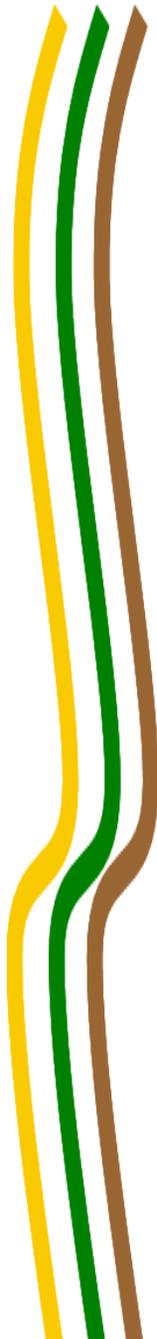
Br. Alexander Josué Cajina Silva  
Br. César Ramón Mendoza Blandón

#### Asesores

MSc. Marbell Aguilar Maradiaga  
MSc. Roxana Yadira Cruz Cardona

Managua, Nicaragua

Marzo, 2023





“Por un Desarrollo  
Agrario  
Integral y Sostenible”

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

## FACULTAD DE AGRONOMÍA

### Trabajo de Tesis

Micropropagación de Teca (*Tectona grandis*  
Linn F.) en Biorreactores Económicos de  
Inmersión Temporal, 2021- 2022

#### Autores

Br. Alexander Josué Cajina Silva

Br. César Ramón Mendoza Blandón

#### Asesores

MSc. Marbell Aguilar Maradiaga

MSc. Roxana Yadira Cruz Cardona

*Presentado a la consideración del honorable Comité  
Evaluador como requisito final para optar al grado de  
Ingeniero Agrónomo*

Managua, Nicaragua

Marzo, 2023

Hoja de aprobación del Comité Evaluador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el Honorable Comité Evaluador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

***Ingeniero Agrónomo***

---

Miembros del Comité Evaluador

---

Presidente (MSc. Martha Gutiérrez  
Castillo)

Secretario (MSc. Isidro Salinas  
Marcenaro)

Vocal (MSc. Helen Ramírez Velásquez)

Lugar y Fecha:                     Sala Magna, FAGRO, 11 de noviembre del 2022

## DEDICATORIA

Este trabajo investigativo está dedicado a:

Primeramente, a **Dios**, por haberme dado la vida y ser acompañante en el transcurso de esta etapa universitaria, brindándome siempre salud, paciencia, sabiduría y fuerza para la culminación con éxito de cada meta planificada.

A mis padres, **Fabricio Octavio Cajina Loaisiga** y **Fátima de los Ángeles Silva Castrillo**, quienes, con amor, sacrificio y esfuerzo, me han apoyado incondicionalmente en cada etapa de mi vida.

Finalmente, a mi abuela, **Luisa Amanda Castrillo González** y a mis tíos, **Blanca Silva Castrillo**, **Ángela Silva Castrillo** y **Edwin Solórzano Morales**, quienes, me han respaldado económicamente, e igualmente brindado consejos y palabras de aliento desde que tengo conocimiento alguno.

*Br. Alexander Josué Cajina Silva*

## DEDICATORIA

Primeramente, a **mis padres**, quienes con mucho amor, paciencia, sabiduría y esfuerzo, me han apoyado para llegar a cumplir mi sueño de ser ingeniero agrónomo, inculcándome a no temer a las adversidades y problemas porque Dios está y estará conmigo siempre.

Segundo, a **mis hermanos y sobrinos**, por todo su cariño y apoyo incondicional, durante esta etapa. **A toda mi familia materna**, porque con consejos y palabras de aliento y sabiduría lograron convertirme en una mejor persona.

De igual manera, quiero agradecer a mi compañero de tesis **Alex Cajina**, mis asesores **MSc. Marbell Aguilar, MSc. Roxana Cruz y los profesores Johnston y Rene**, quienes me acompañaron en cada paso durante este proceso de trabajo de tesis.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a **todos mis amigos**, por darme todo su apoyo cuando más lo necesite, extendiendo sus mano en momentos duros.

*Br. César Ramón Mendoza Blandón*

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradezco a **mi padre celestial**, por ser mi refugio y fortaleza en todo momento de mi vida.

A mis asesores, **MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga** y **MSc. Roxana Yadira Cruz Cardona**, por concederme el honor y privilegio de trabajar y aprender junto con ellos, así como, por todo el apoyo, confianza, conocimiento y acompañamiento brindado en cada instante de este tema de investigación.

A los ingenieros encargados de las actividades del laboratorio, **Ing. Johnston Zeledón** y **Ing. René Vado**, por todo su apoyo, sugerencias y comentarios proporcionados al momento de la ejecución de cada uno de los métodos correspondiente al tema de investigación.

A mi Alma Máter, la **Universidad Nacional Agraria (UNA)**, especialmente a los docentes de la **Facultad de Agronomía (FAGRO)**, por haberme facilitado las herramientas y los medios necesarios para alcanzar mi formación profesional durante estos 5 años.

A la **Dirección de Investigación Extensión y Posgrado (DIEP)** de la Universidad Nacional Agraria, por interesarse en este estudio y con ello, financiarnos y brindarnos la oportunidad de realizar este tema de discusión.

Finalmente, a mis amistades de las carreras de ingeniería agronómica y agrícola, especialmente al **Br. Cruz Hernández**, **Br. Jastin López**, **Br. Arleth Zeledón**, **Br. Alma Espino**, **Br. Emely Muñoz**, **Br. Rachell Gaitán**, **Br. Cesar Mendoza**, **Br. Jahoska Cuadra**, **Br. Mauricio Bofill** y **Br. Maycol Ayerdis**, por su amistad y apoyo incondicional, ya que juntos nos ayudamos y acompañamos en el transcurso de esta etapa universitaria.

*Br. Alexander Josué Cajina Silva*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a **Dios**, creador de los cielos y la tierra, quien me protege y bendice todos los días de mi vida a mí y toda mi familia.

Mi profundo agradecimiento a todos los docentes, autoridades, personal que conforman la Universidad Nacional Agraria de Nicaragua, porque cada uno abrió sus puertas y me permitió formarme como ingeniero agrónomo.

De igual manera mis agradecimientos a toda **la Facultad de Agronomía**, a mis profesores queridos, en especial a quienes durante el transcurso de la carrera transmitieron con mucha paciencia y dedicación todos sus valiosos consejos y conocimientos, logrando así mi crecimiento profesional y personal.

Finalmente, quiero expresar mi más agradecimiento a mi compañero de tesis, **Br. Alexander Cajina**, por toda su confianza y colaboración, que dieron como resultado el desarrollo de este trabajo de tesis.

*Br. César Ramón Mendoza Blandón*

## INDICE DE CONTENIDO

| <b>SECCIÓN</b>   | <b>PÁGINA</b> |
|--|---------------|
| <b>DEDICATORIA</b>   | <b>i</b>      |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>   | <b>iii</b>    |
| <b>INDICE DE CUADROS</b>   | <b>vii</b>    |
| <b>INDICE DE FIGURAS</b>   | <b>viii</b>   |
| <b>INDICE DE ANEXOS</b>  | <b>x</b>      |
| <b>RESUMEN</b>   | <b>xi</b>     |
| <b>ABSTRACT</b>  | <b>xii</b>    |
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b>   | <b>1</b>      |
| <b>II. OBJETIVOS</b>   | <b>3</b>      |
| 2.1. Objetivo general  | 3             |
| 2.2. Objetivos específicos   | 3             |
| <b>III. MARCO DE REFERENCIA</b>                                      | <b>4</b>      |
| 3.1. Origen de la teca en Centro América                             | 4             |
| 3.2. Propagación sexual y asexual de la teca                         | 5             |
| 3.3. Biorreactores económicos de inmersión temporal                  | 6             |
| 3.4. Efectos de las hormonas en los tejidos                          | 7             |
| <b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</b>                                      | <b>10</b>     |
| 4.1. Ubicación del área de Estudio                                   | 10            |
| 4.2. Esterilización de materiales y equipos                          | 10            |
| 4.3. Selección del material y establecimiento                        | 10            |
| 4.4. Fase de multiplicación  | 10            |
| 4.4.1. Experimento 1. Repuesta morfogénica de segmentos de tallos    | 11            |
| 4.4.2. Experimento 2. Respuesta morfogénica a la densidad de siembra | 15            |

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| 4.5.         | Fase de enraizamiento   | 16        |
| 4.5.1.       | Experimento 3. Respuesta rizogénica de segmentos de tallos    | 16        |
| <b>V.</b>    | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                                 | <b>19</b> |
| 5.1.         | Experimento 1. Respuesta morfogénica de segmentos de tallo    | 19        |
| 5.1.1.       | Tipos de segmentos de tallos                                  | 19        |
| 5.2.         | Experimento 2. Respuesta morfogénica a la densidad de siembra | 25        |
| 5.3.         | Experimento 3. Respuesta rizogénica de los segmentos de tallo | 28        |
| 5.3.1.       | Segmentos de tallo de dos entrenudos con yema apical          | 28        |
| 5.3.2.       | Segmentos de tallo de dos entrenudos sin yema apical          | 32        |
| <b>VI.</b>   | <b>CONCLUSIONES</b>   | <b>36</b> |
| <b>VII.</b>  | <b>RECOMENDACIONES</b>  | <b>37</b> |
| <b>VIII.</b> | <b>LITERATURA CITADA</b>                                      | <b>38</b> |
| <b>IX.</b>   | <b>ANEXOS</b>   | <b>42</b> |

---

## INDICE DE CUADROS

| <b>CUADRO</b>   | <b>PÁGINA</b> |
|---|---------------|
| 1. Cuatro variantes de medios de cultivo empleados en la fase de multiplicación de segmentos de tallo de teca   | 14            |
| 2. Cinco variantes de medios de cultivo empleados en la fase de enraizamiento de segmentos de tallo de teca   | 16            |
| 3. Resultados de número de hojas producidas en tres fuentes de yemas individuales establecidas en cuatro variantes de medios de cultivo a las cuatro semanas en fase de multiplicación                                  | 20            |
| 4. Resultados de número de hojas producidas en tres fuentes de segmentos de tallo con yemas apicales establecidas en cuatro variantes de medios de cultivo a las cuatro semanas en fase de multiplicación               | 22            |
| 5. Resultados de número de hojas producidas en tres fuentes de segmentos de tallo con yemas axilares establecidas en cuatro variantes de medios de cultivo a las cuatro semanas en fase de multiplicación               | 23            |
| 6. Resultados de longitud de planta y número de hojas producidas en segmentos de tallo con dos entrenudos en yemas axilares y apicales inoculadas en BEIT de tres litros a las cuatro semanas en fase de multiplicación | 26            |

## INDICE DE FIGURAS

| FIGURA  | PÁGINA |
|---|--------|
| 1. Segmentos de tallo individuales de teca. a) primer par de hojas. b) segundo par de hojas. c) tercer par de hojas.  | 11     |
| 2. Extracción de yemas individuales. a) segmento de tallo con el primer entrenudo. b) segmento de tallo con el segundo con entrenudo. c) segmento de tallo con el tercer entrenudo.   | 11     |
| 3. Segmentos de tallo individuales de teca con yema apical. a) yema apical con un entrenudo b) yema apical con dos entrenudos. c) yema apical con tres entrenudos.  | 12     |
| 4. Extracción de segmentos de tallo con yemas apicales. a) segmento de tallo con yema apical y un entrenudo. b) segmento de tallo con yema apical y dos entrenudos. c) segmento de tallo con yema apical y tres entrenudos.                           | 12     |
| 5. Segmentos de tallo individuales de teca sin yema apical. a) sin yema apical con un entrenudo b) sin yema apical con dos entrenudos. c) sin yema apical con tres entrenudos.  | 13     |
| 6. Extracción de segmentos de tallos sin yemas apicales. a) segmento de tallo sin yema apical y un entrenudo. b) segmento de tallo sin yema apical y dos entrenudos. c) segmento de tallo sin yema apical y tres entrenudos.                          | 13     |
| 7. Vigor de plántulas y hojas de teca del segundo entrenudo en la fase de enraizamiento. a) Bajo vigor, b) Vigor mediano c) Buen vigor.   | 18     |
| 8. Plantas de teca en BEIT de 1 litro formadas en la fase de multiplicación a las cuatro semanas.   | 21     |
| 9. Plantas de teca formadas en la fase de multiplicación. Izquierda, a partir de yemas apicales y un par de hojas. Centro, a partir yemas apicales y dos pares de hojas. Derecha, a partir yemas apicales y tres pares de hojas.                      | 22     |
| 10. Plantas de teca formadas en la fase de multiplicación. Izquierda, a partir de yemas axilares con un entrenudo. Centro, a partir yemas axilares con dos entrenudos. Derecha, a partir yemas axilares con tres entrenudos.                          | 24     |
| 11. Plantas formadas a las cuatro semanas en fase de multiplicación a partir segmentos de tallo con dos entrenudos inoculados a una densidad de 60 yemas en BEIT de tres litros. Izquierda yemas axilares. Derecha yemas apicales.                    | 27     |
| 12. Efecto en la longitud del tallo de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L <sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas apicales. Letras desiguales difieren para $p \leq 0.05$ .            | 28     |
| 13. Número de hojas producidas en plantas de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L <sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas apicales. Letras desiguales difieren para $p \leq 0.05$ .      | 29     |
| 14. Efecto en el enraizamiento de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L <sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas apicales. Letras desiguales difieren para $p \leq 0.05$ .                 | 30     |
| 15. Plantas formadas en BEIT de tres litros a partir segmentos de tallo con dos entrenudos con yema apical a las cuatro semanas en fase de enraizamiento.   | 31     |
| 16. Vigor de plantas <i>in vitro</i> de teca (Buen vigor, mediano y bajo vigor) obtenidas de segmentos de tallo con su yema apical por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L <sup>-1</sup> de AIA. Valores en porcentajes. | 32     |

17. Efecto en la longitud del tallo de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas axilares. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ . 32
  18. Efecto en el número de hojas producidas en plantas de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas axilares. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ . 33
  19. Efecto en número de raíces producidas en plantas de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas axilares. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ . 34
  20. Plantas formadas en BEIT de tres litros a partir segmentos de tallo con dos entrenudos sin yema apical a las cuatro semanas en fase de enraizamiento. 34
  21. Vigor de plantas *in vitro* de teca (Buen vigor, mediano y bajo vigor) obtenidas de segmentos de tallo con yema axilares por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA. 35
-

## INDICE DE ANEXOS

| <b>ANEXO</b>                            | <b>PÁGINA</b> |
|---|---------------|
| 1. Medio basal Murashige y Skoog (1962) | 42            |

## RESUMEN

La micropropagación de teca (*Tectona grandis* Linn F.) es una herramienta que permite multiplicar plantas elites de forma asexual en ambientes controlados. El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de hormonas vegetales en yemas apicales y axilares en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) en fase de multiplicación y enraizamiento. Este se desarrolló en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Universidad Nacional Agraria (UNA), en el período comprendido de febrero 2021 a agosto 2022. En la fase de multiplicación se evaluó el efecto de dos concentraciones de 6-BAP y de GA<sub>3</sub> en nueve tipos de tejidos (primer, segundo y tercer par de hojas, yema apical con un, dos y tres entrenudos y sin yema apical con un, dos y tres entrenudos) empleando Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal; además se estudió el efecto de densidades de siembra con 30, 40, 50 y 60 tejidos. En fase de multiplicación empleando solo yemas apicales el número de hojas fue superior en los tratamientos con dosis de 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP y 0.05 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> y la combinación de dosis de 1 mg L<sup>-1</sup> 6-BAP con 0.05 o 0.10 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>; con yemas axilares del segundo entrenudo esa variable fue superior en los tratamientos con 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP adicionado con 0.05 o 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Con yemas axilares del tercer entrenudo y con yemas apicales con un entrenudo la media de número de hojas fue similar en todos los tratamientos antes citados; mientras que con segmentos de yemas apicales con dos entrenudos esa variable resultó superior en el medio con 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP combinado con 0.05 o 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Con yemas apicales y tres entrenudos el número de hojas fue superior en el medio con 0.50 o 1.00 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP combinados con 0.05 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. En biorreactores de 3 litros con densidades de 30, 40, 50 y 60 yemas apicales o axilares ambas con dos entrenudos presentaron igual comportamiento estadístico en longitud de planta. El número de hojas producidas por segmentos con yemas apicales resultó superior con densidades de 30 y con 40 en los dos tipos de segmentos. En la fase de enraizamiento, las yemas apicales y axilares de dos entrenudos resultaron superiores en longitud de planta, número de hojas, número de raíces y vigor con porcentajes entre 60 y 70 % en 0.25, 0.50 y 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Plantas formadas de yemas axilares en todos los tratamientos presentaron vigor con porcentajes entre el 60 y el 70 %.

**Palabras clave:** Teca, yemas apicales, yemas axilares, BEIT, BAP, GA<sub>3</sub>.

## ABSTRACT

Teak micropropagation (*Tectona grandis* Linn F.) is a tool that allows elite plants to multiply asexually in controlled environments. The objective of the study was to evaluate the effect of plant hormones on apical and axillary buds in Economic Temporary Immersion Bioreactors (BEIT) in the multiplication and rooting phase. This was developed in the tissue culture laboratory of the National Agrarian University (UNA), in the period from February 2021 to August 2022. In the multiplication phase, the effect of two concentrations of 6-BAP and GA<sup>3</sup> was evaluated on nine types of tissues (first, second and third pair of leaves, apical bud with one, two and three internodes and without apical bud with one, two and three internodes) using Economic Temporary Immersion Bioreactors; In addition, the effect of planting densities with 30, 40, 50 and 60 tissues was studied. In the multiplication phase using only apical buds, the number of leaves was higher in the treatments with doses of 0.50 mg L<sup>-1</sup> of 6-BAP and 0.05 mg L<sup>-1</sup> of GA<sup>3</sup> and the combination of doses of 1 mg L<sup>-1</sup> 6-BAP with 0.05 or 0.10 mg L<sup>-1</sup> GA<sup>3</sup>; with axillary buds from the second internode, this variable was higher in the treatments with 0.50 mg L<sup>-1</sup> of 6-BAP added with 0.05 or 0.10 mg L<sup>-1</sup> of GA<sup>3</sup>. With axillary buds from the third internode and with apical buds with one internode, the mean number of leaves was similar in all the aforementioned treatments; while with segments of apical buds with two internodes, this variable was higher in the middle with 0.50 mg L<sup>-1</sup> of 6-BAP combined with 0.05 or 0.10 mg L<sup>-1</sup> of GA<sup>3</sup>. With apical buds and three internodes, the number of leaves was higher in the middle with 0.50 or 1.00 mg L<sup>-1</sup> of 6-BAP combined with 0.05 mg L<sup>-1</sup> of GA<sup>3</sup>. In 3-liter bioreactors with densities of 30, 40, 50, and 60 apical or axillary buds, both with two internodes presented the same statistical behavior in plant length. The number of leaves produced by segments with apical buds was higher with densities of 30 and with 40 in the two types of segments. In the rooting phase, the apical and axillary buds of two internodes were superior in plant length, number of leaves, number of roots and vigor with percentages between 60 and 70 % in 0.25, 0.50 and 0.75 mg L<sup>-1</sup> of AIA. Plants formed from axillary buds in all treatments presented vigor with percentages between 60 and 70 %.

**Keyword:** Teak, apical buds, axillary buds, BEIT, BAP, GA<sup>3</sup>.

## I. INTRODUCCIÓN

En Nicaragua, la producción de madera cuenta con 36 mil hectáreas de especies forestales, sin embargo, el país presenta un potencial de suelos de 500 mil hectáreas que permitiría incrementar hasta 14 veces esas áreas óptimas, para plantaciones forestales y beneficiar a 80 mil trabajadores representando el 0.8 por ciento de la fuerza laboral formal (MLR, 2021, párr.1).

De acuerdo con el diagnóstico del sector forestal de Nicaragua, las plantaciones forestales tienen un gran potencial económico en el país, actualmente se estima que las plantaciones existentes ofertan un volumen anual de 840 mil metros cúbicos de madera, generando 242 millones de dólares por año (Camino, 2018, p. 8). Así mismo, el plan nacional de producción consumo y comercio ciclo 2018-2019, reporta que la teca produjo 20.6 miles de metros cúbicos de madera (Banco Central de Nicaragua, 2019, p. 37).

La teca es una madera de gran calidad, utilizada de gran manera para obras estructurales y decorativas por su color y durabilidad, sin embargo, su uso es muy limitado, debido a sus altos precios (Vallejo y Zapata, 2018, párr. 45). Además, “es una especie que destaca por sus magníficas características de durabilidad natural, poseer una buena estabilidad dimensional y una resina antiséptica que la hace resistente al ataque de diversos organismos, como termitas y diversos hongos” (Maderea, 2017, párr. 3).

Leandro *et al.*, (2003) menciona que “a pesar de que la diversidad genética de la teca en la región América Latina no es muy amplia, el germoplasma introducido ha dado resultados satisfactorios en términos de productividad, especialmente en tasas de crecimiento, rectitud y calidad del fuste, e incluso en propiedades de la madera” (Murillo *et al.*, 2013, p. 94).

La producción de material vegetativo a partir de propagación sexual (semillas) produce mucha variabilidad genética en características como el crecimiento, mientras que, con el uso de plántulas obtenidas por micropropagación, se obtiene un material uniforme y de calidad, permitiendo ser transportadas de un país a otro sin ningún tipo de mortalidad, realizándose las plantaciones forestales con mayor rapidez y garantizando un crecimiento adecuado y vigoroso posterior a la siembra (Fonseca, 2004, p. 30).

Murillo *et al.*, (2003) destaca que “las nuevas tecnologías de producción masiva de clones permiten la producción constante de material de plantación en cualquier época del año y prácticamente sin limitación en la cantidad de individuos” (p. 36).

De acuerdo con Santos *et al.*, (2013) una alternativa para la reproducción vegetativa de teca es la propagación de plantas a través de la micropropagación, que se fundamenta mediante la clonación de material vegetal elite, presentando altas tasas de multiplicación y buenas características genotípicas y fenotípicas como altura, rectitud de fuste, copa y alto rendimiento de madera (p. 85). Así mismo, Santos *et al.*, (2013) afirman que la micropropagación “permite propagar árboles seleccionados por sus características fenotípicas y alto rendimiento de la madera, incrementando la tasa de multiplicación y manteniendo un alto nivel de sanidad y estabilidad genética” (p. 83).

De acuerdo con Castillo *et al.*, (2013), para emplear la micropropagación de teca como actividad comercial, es necesario disponer de tecnologías como los biorreactores de inmersión temporal, donde se utiliza medios líquidos. Los medios líquidos presentan la ventaja que los explantes tienen mayor facilidad de absorción de los nutrientes, debido a la formación de una película acuosa que cubre el tejido vegetal. En el caso del medio sólido, la difusión de los nutrientes es a través del agar, en un solo punto de contacto entre el explante y el medio de cultivo (p. 88 – 89).

Los Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) desarrollados en la Universidad Nacional Agraria funcionan en un solo recipiente de vidrio, donde se inyecta aire comprimido suministrado por una bomba de vacío, permitiendo que el medio de cultivo líquido cubra todo el material de poliuretano donde están establecidos los segmentos de tallos, garantizando de esta manera, que se oxigenen los tejidos durante el tiempo de inmersión. Además, para evitar la contaminación de microorganismos dentro de los biorreactores, sobre la tapa de este se colocan dos filtros de acetato de celulosa (Cruz, 2020, p. 15).

Con la utilización de los biorreactores en la micropropagación de teca y el empleo de diferentes tipos de tejidos es posible mejorar el proceso de producción masiva en la micropropagación de teca. Se planteó este estudio con el objetivo de evaluar la respuesta morfogénica de segmentos de teca en dos fases de micropropagación con Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT).

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Evaluar la respuesta morfogénica de segmentos de teca en dos fases de micropropagación con Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT).

### **2.2. Objetivos específicos**

Analizar en la fase de multiplicación la respuesta morfogénica de los segmentos de yemas apicales e axilares en diferentes combinaciones de 6-bencil amino purina (6-BAP) y ácido giberélico (GA<sup>3</sup>).

Identificar la óptima densidad de siembra de segmentos de teca con yemas apicales y yemas axilares en la fase de multiplicación.

Determinar en la fase de enraizamiento la mejor concentración de ácido indolacético (AIA) en segmentos de tallo con yemas apicales e axilares.

### III. MARCO DE REFERENCIA

#### 3.1. Origen de la teca en Centro América

La teca (*Tectona grandis* Linn F.) es un árbol latifoliado de fuste recto, con corteza áspera y fisurada, que crece muy rápido en sus etapas juveniles, alcanzando de 8 a 10 metros de altura en 2 años, sin embargo, su crecimiento se torna lento en los años posteriores. La teca es originaria del sudeste de Asia, en donde logra alcanzar hasta 45 m de altura ha sido introducida en la mayoría de los países con clima tropical y en América, fue introducida primeramente en Trinidad y Tobago en 1913 y en 1916 (Fonseca, 2004, p. 2).

La teca es la especie de árbol comercial más destacada y reconocida en el mundo, así mismo ocupa el tercer puesto en las especies forestales más plantadas en América Latina, superada por el pino y eucalipto. (Martínez, 2015, p. 4). Esta se introdujo en Nicaragua en el año 1990 y logró naturalizarse y adaptarse satisfactoriamente al clima y por su calidad de madera, existe aumento constante en las áreas de producción (Espinoza *et al.*, 2015, p. 5).

Se estima que Nicaragua existen 2.5 millones de hectáreas aptas para plantaciones forestales, siendo el 49% de éstas de alta productividad para teca, ubicadas principalmente en los departamentos de León, Chinandega, Masaya, Rivas, Granada, Boaco, Chontales, Río San Juan, Región Autónoma Atlántico Norte y Región Autónoma Atlántico Sur. (Rivas, 2004, p. 2)

La teca es una especie forestal que presenta un sin número de características como la durabilidad natural, excelente estabilidad dimensional y una resina antiséptica que la hace resistente al ataque de diversas plagas. Además, la teca es de importancia económica y ecológica por su rápido crecimiento y rendimiento, buen acabado de la madera, excelentes precios internacionales y su alta aportación de biomasa al suelo (Maderea, 2017, párr. 3).

Al respecto, Berrocal y Agüero (2006) afirman que:

Estas excelentes características han hecho que la teca sea considerada una de las especies más valiosas del mundo, siendo ampliamente codiciadas en el mercado, tanto en el ámbito nacional como internacional; influenciado por la gran variedad de usos que tiene (muebles, construcción pesada, pisos, yates, artesanías, vigas laminadas, compuestos de madera etc.).

(p.1)

Actualmente en Nicaragua, los daños que se han obtenido a causa de la deforestación impulsan a desarrollar estrategias para una reproducción y crecimiento rápido de especies vegetales forestales, que ayuden a evitar las tensiones a las que están sometidas los ecosistemas en el país (MARENA, 2019, p. 1)

### **3.2. Propagación sexual y asexual de la teca**

La teca es una especie introducida, eventualmente naturalizada, que ha ganado mucha popularidad en Nicaragua por su rápido crecimiento y calidad de madera. Sin embargo, a pesar de garantizar un crecimiento vegetativo óptimo de brotes y yemas, que la hace viable para estudios de propagación y multiplicación vegetativa, aún no ha sido estudiada intensamente en el campo de propagación vegetal asexual en nuestro país.

La propagación por semilla de teca presenta algunos inconvenientes como baja disponibilidad de semillas de alta calidad en el mercado, las tasas de germinación en condiciones normales son muy variables e impredecibles, alta variabilidad entre individuos y entre más largo sea el fuste limpio, por ende, su valor comercial, más tarde se presentará su fructificación (Martínez, 2015, p. 9).

Abdelnour y Muñoz (2012) afirman que:

La demanda de madera 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.  
(p. 2)

Hoy en día, los proyectos de gran demanda y experiencia ejecutan programas de selección de material vegetativo, donde se selecciona cuidadosamente las estacas de árboles, siguiendo estrictos protocolos de selección según la demanda de la empresa, para luego ser almacenadas en huertos clonales (Montenegro *et al.*, 2013, p. 50).

Una solución para evitar la variabilidad genética que se genera con la reproducción por semilla sexual es la micropropagación que es un sistema de propagación asexual, donde se obtiene como resultado la propagación masiva de plantas genéticamente idénticas. Además, con esta tecnología

se obtienen plantas de forma exponencial, por la obtención de explantes menores a 1 cm de longitud (Salgado, 2019, párr. 6).

La micropropagación vegetativa que consiste en producir plantas a partir de porciones pequeñas de ellas, manteniendo las características genéticas de la planta madre, resultando ser una excelente opción para multiplicar especies forestales como la teca, sin embargo, requiere un control de las condiciones asépticas del ambiente y de los medios nutritivos para mantener los cultivos libres de contaminación microbiana (Ruscitti, 2021, p. 5).

En el caso de la teca, para realizar la micropropagación se seleccionan plantas madre que cumplen con condiciones de calidad, donde se aplican condiciones de asepsia controladas a fin de evitar la reproducción de enfermedades (Cruzat., 2009, p. 6). De acuerdo con Olmos *et al.*, (2010), la “correcta elección y preparación del explante incide directamente sobre la calidad de este y su respuesta frente a los dos principales problemas que afectan al establecimiento del cultivo, que son la contaminación con microorganismos y la oxidación del explante” (p. 353).

### **3.3. Biorreactores económicos de inmersión temporal**

“Las principales limitantes de los protocolos de micropropagación convencional son los bajos coeficientes o tasas de multiplicación, el alto costo de la mano de obra y una escasa posibilidad de automatización” (Frometa *et al.*, 2016, párr. 6). “Para resolver estas limitantes, se han adaptado varios tipos de biorreactores para la micropropagación de plantas” (Etienne y Berthouly, 2002, p. 1).

Al respecto, Pérez *et al.* (1998), menciona que “las ventajas de los sistemas de inmersión en medio líquido sobre la micropropagación tradicional parecen ser el resultado de las condiciones físicas creadas en el recipiente de cultivo como son: aporte más eficiente de los elementos nutritivos, mínima interrupción del intercambio de gases entre el explante o embrión y la atmósfera, no hay acumulación excesiva de gases nocivos para los tejidos y la dispersión de los tejidos por efecto del flujo de aire en recipiente” (Paiz, 2006, p. 7).

De acuerdo con Albarrán *et al.*, (2014):

Entre los tipos de biorreactores, los de inmersión temporal se diseñaron basándose en el uso de medios de cultivo líquido y la automatización del proceso de micropropagación con

la finalidad de aumentar las tasas de multiplicación de especies vegetales de interés agrícola, forestal y medicinal; de esta manera se obtiene un mayor número de plantas por recipiente, el reemplazo del medio de cultivo es sencillo y demanda poca mano de obra. (p. 1)

Los Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT) constituyen una herramienta eficaz para la propagación de plantas *in vitro*, donde se aumenta el coeficiente de multiplicación y la calidad de plántulas. Además, en los biorreactores las plantas son sometidas a una inmersión en medio de cultivo líquido y los cambios fisiológicos que se producen durante esta etapa son los responsables de la calidad de las plantas (Aragón, 2004, párr. 1).

El empleo del modelo de Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) desarrollado en la Universidad Nacional Agraria (UNA) en el laboratorio de cultivo de tejidos resulta ser práctico, considerablemente más económico y sencillo de construir; gracias a que los accesorios que conforman su diseño se localizan fácilmente en el país, además se puede reutilizar innumerables veces y al ser de polipropileno el riesgo de quebrarse es mínimo. Es por eso por lo que los biorreactores BEIT pueden ser adaptados fácilmente por los laboratorios de cultivo de tejidos tanto dentro como fuera del país (Navarro, 2019, p. 2).

De acuerdo con Aguilar y Cruz (2014):

El BEIT tiene las ventajas de evitar la inmersión continua del material vegetal en el medio del cultivo, proveen adecuada transferencia de oxígeno, bajos costos de adquisición y se pueden armar fácilmente, reduce el tiempo y el costo de producción, favoreciendo la mejora de la calidad genética y fitosanitaria de cultivos como plátano, caña de azúcar, piña, etc. (p. 19).

### **3.4 Efectos de las hormonas en los tejidos**

Una fitohormona u hormona vegetal se define como una sustancia orgánica, distinta de los nutrientes, activa a bajas concentraciones y se encuentran de forma natural en los tejidos de las plantas, realizando un papel regulador más que nutricional en el crecimiento y desarrollo (Fichet, 2017, párr. 1).

Cada hormona vegetal, cumple varias funciones, algunas muy específicas, y en algunos casos deben actuar dos o más hormonas para regular un evento fisiológico de la planta. La presencia hormonal es crítica para que un evento fisiológico se presente. Por el contrario, si está ausente o en poca cantidad, el evento fisiológico no se presentará o se manifestará muy pobremente (Díaz, 2017, párr. 3). Así mismo, se reconocen comúnmente como hormonas vegetales cinco tipos de compuestos: auxinas, citocininas, giberelinas, etileno y ácido abscísico, donde cada hormona tiene efectos fisiológicos propios en la planta (Carbonell *et al.*, 2016, p. 1).

Las auxinas, siendo las más comúnmente usadas en laboratorio *in vitro*, el ácido indolbutírico (AIB), ácido indolacético (AIA) y ácido naftalenacético (ANA), participan en todos los procesos de desarrollo de las plantas e intervienen en los procesos de división, elongación y diferenciación celular (Garay *et al.*, 2014, p. 2).

En cambio, las citocininas se sintetizan principalmente en la raíz hormonas, estas activan el crecimiento de las yemas laterales, estimulan el crecimiento de frutos, retardan la senescencia en hojas y estimulan la movilización de nutrimentos. La zeatina, benciladenina y kinetina son las más importantes (Díaz, 2017, párr. 7).

Las giberelinas estimulan el crecimiento principalmente vía división y alargamiento celular, siendo las protagónicas en este último. Además, regulan al proceso de germinación y intervienen en procesos de inhibición de senescencia e inhibición floral y radical. Existen más de 130 giberelinas en las plantas, pero muy pocas tienen actividad biológica, las más destacadas son la GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub> y GA<sub>4</sub> (Díaz, 2017, párr. 6).

Rojas y Abdelnour (2012), evaluaron el efecto de 6-bencilaminopurina (6-BAP) y ácido indolacético (AIA) en la brotación de yemas dormantes y formación de callos en teca, dando como resultado que la concentración de 0.005 mg L<sup>-1</sup> de AIA, fue el mejor tratamiento para incrementar la brotación de las yemas y para disminuir la formación de callo.

Un estudio por parte de Quiala (2014), demostró que el empleo de BIT, durante la fase de multiplicación de tejido y ausencia de la hormona 6-Bencilaminopurina (6-BAP) o con una concentración de 0.5 mg L<sup>-1</sup>, permite obtener plantas sin desórdenes fisiológicos y con alta supervivencia durante la fase de aclimatación.

Daquinta *et al.*, (2021), ejecutaron un proyecto de investigación con el que se pretendía establecer un protocolo para la propagación *in vitro* de teca (*Tectona grandis* Linn F.), se evaluaron diferentes concentraciones de 6-BAP en la multiplicación de brotes y la inducción del enraizamiento con polvos enraizadores. Se obtuvo un 100% de brotación de los ápices de brotes epicórmicos en el medio suplementado con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP. En cuanto a la inducción del enraizamiento se obtuvo que los explantes tratados con el polvo enraizador a 1000 mg L<sup>-1</sup> de ANA y 1000 mg L<sup>-1</sup> AIB, fueron los que presentaron mayor porcentaje de enraizamiento (92.5%).

Castro *et al.*, (2012), desarrollaron una metodología para la propagación *in vitro* de teca a partir de árboles élite. Como fuente de explantes se emplearon ápices procedentes de brotes epicórmicos, los cuales se sembraron en un medio de cultivo gelificado que contenía 6-BAP, donde se evaluaron diferentes concentraciones (0, 0.1, 0.5 y 1.0 mg L<sup>-1</sup>). Los resultados obtenidos muestran que el mayor coeficiente de multiplicación y mejor calidad de los brotes se logró con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Ubicación del área de Estudio

El estudio se realizó desde febrero 2021 a agosto 2022 en el laboratorio de cultivo de tejido de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria, ubicado en el Km. 12 ½ carretera norte en el departamento de Managua, situado en las coordenadas 12° 08' 58.3'' latitud norte y -86° 09' 37.0'' longitud oeste.

### 4.2. Esterilización de materiales y equipos

La cristalería se sumergió durante 24 horas en un recipiente plástico con capacidad de 30 litros conteniendo hipoclorito de sodio ( $\text{NaClO}_3$ ) al 1%; después se lavó con agua y detergente para eliminar los residuos de hipoclorito y posteriormente se procedió a escurrir durante 2 horas. Previo a la siembra de los tejidos *in vitro*, los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 120 °C durante 1 hora. Placas, pinzas y bisturís se esterilizaron en el horno a temperaturas de 180 °C durante 1 hora. La cámara de flujo laminar se desinfectó con alcohol 70% y posteriormente, se expuso a luz ultravioleta durante 30 minutos.

### 4.3. Selección del material y establecimiento

El 8 de febrero del 2021, se extrajeron brotes de los árboles de teca establecidos en el vivero del laboratorio de cultivo de tejido de la Universidad Nacional Agraria (UNA). Una vez extraídos los brotes, se sumergieron en una solución jabonosa preparada con detergente comercial para luego ser trasladados al laboratorio, donde, se realizaron 3 lavados sucesivos con detergente y con ayuda de cepillos, se extrajo los residuos de polvo y suciedad.

En la cámara de flujo laminar, los tejidos se redujeron a un tamaño aproximado de 0.5 cm con ayuda de escalpelos previamente esterilizados y se establecieron en un medio de cultivo con las sales de Murashige y Skoog (MS) con 30 g/l de sacarosa (Anexo 1).

### 4.4. Fase de multiplicación

Esta fase se realizó cada 21 días, donde se realizó el corte de segmentos de tallo para obtener las nuevas plántulas que se utilizaron para establecer los dos experimentos de multiplicación y uno de enraizamiento.

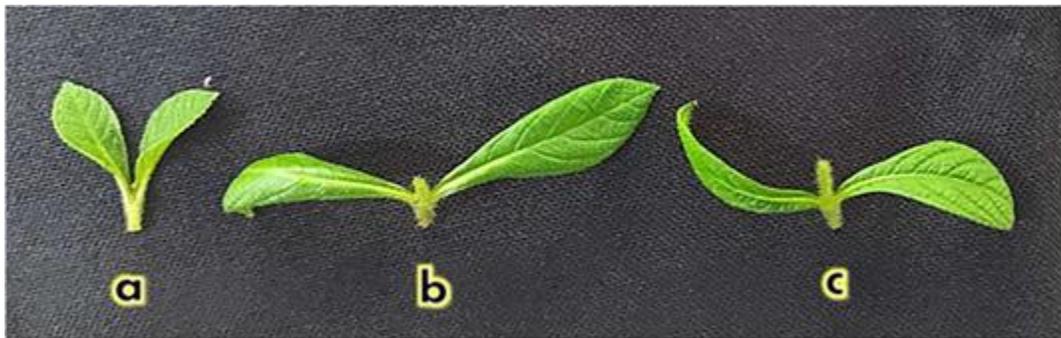
#### 4.4.1. Experimento 1. Repuesta morfogénica de segmentos de tallos

En el experimento 1, se emplearon 9 tipos de segmentos de tallos de teca, los cuales se presentan a continuación:

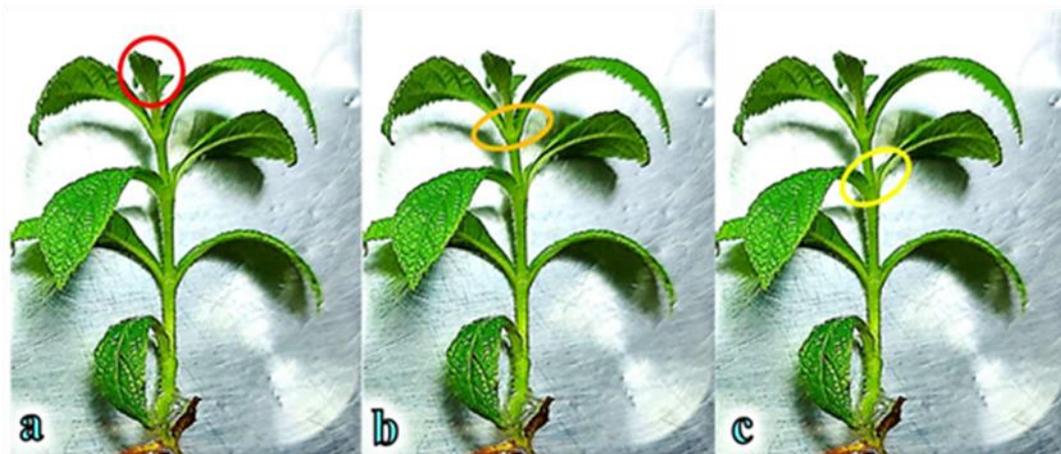
##### Tres fuentes de segmentos de tallo con yemas individuales

- Yema apical individual (primer par de hojas)
- Segundo par de hojas
- Tercer par de hojas

Los tipos de segmentos de tallo con yemas individuales, se observa en la figura 1 y su forma de obtención, se observa el corte en la figura 2



**Figura 1.** Segmentos de tallo individuales de teca. a) primer par de hojas. b) segundo par de hojas. c) tercer par de hojas.

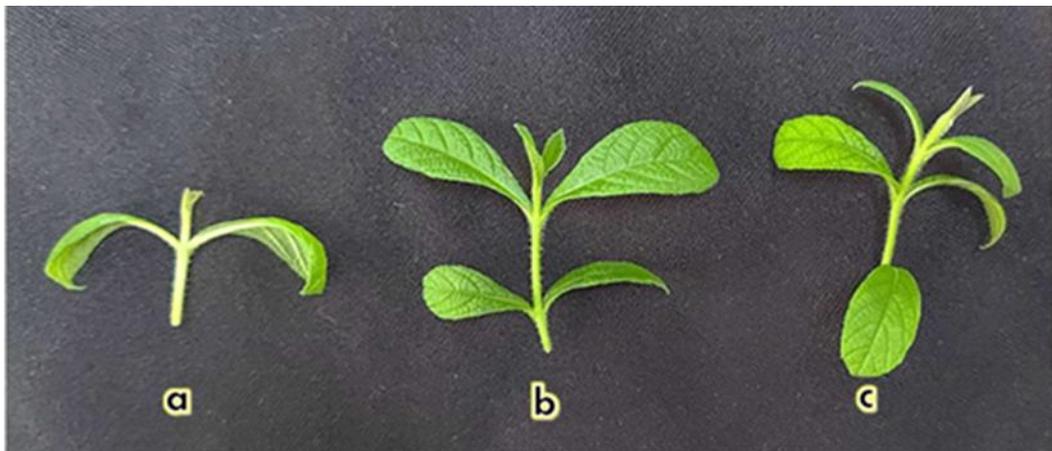


**Figura 2.** Extracción de yemas individuales. a) segmento de tallo con el primer entrenudo. b) segmento de tallo con el segundo con entrenudo. c) segmento de tallo con el tercer entrenudo.

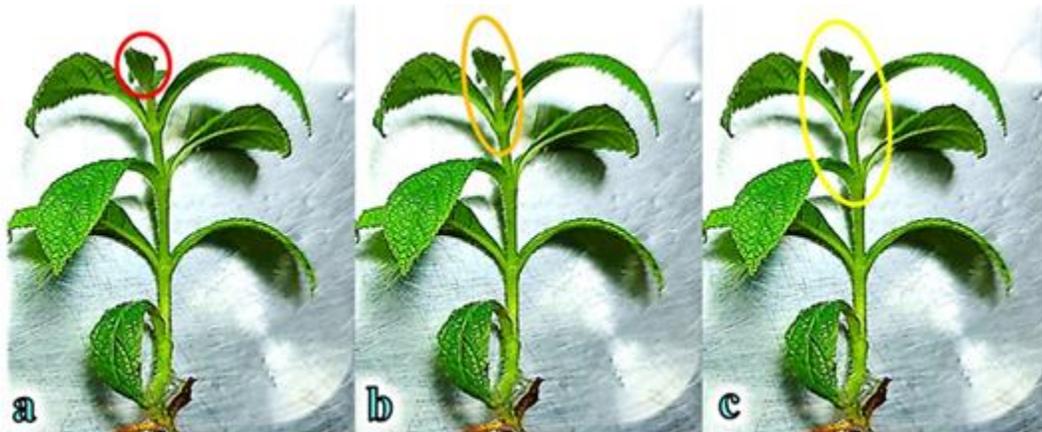
### Tres fuentes de segmentos de tallo con yema apical

- Yema apical con un entrenudo
- Yema apical con dos entrenudos
- Yema apical con tres entrenudos

En la figura 3, se presentan las tres variantes de segmentos de tallo cada uno con su yema apical y en la figura 4, se observa el corte para su obtención.



**Figura 3.** Segmentos de tallo individuales de teca con yema apical. a) yema apical con un entrenudo b) yema apical con dos entrenudos. c) yema apical con tres entrenudos.



**Figura 4.** Extracción de segmentos de tallo con yemas apicales. a) segmento de tallo con yema apical y un entrenudo. b) segmento de tallo con yema apical y dos entrenudos. c) segmento de tallo con yema apical y tres entrenudos.

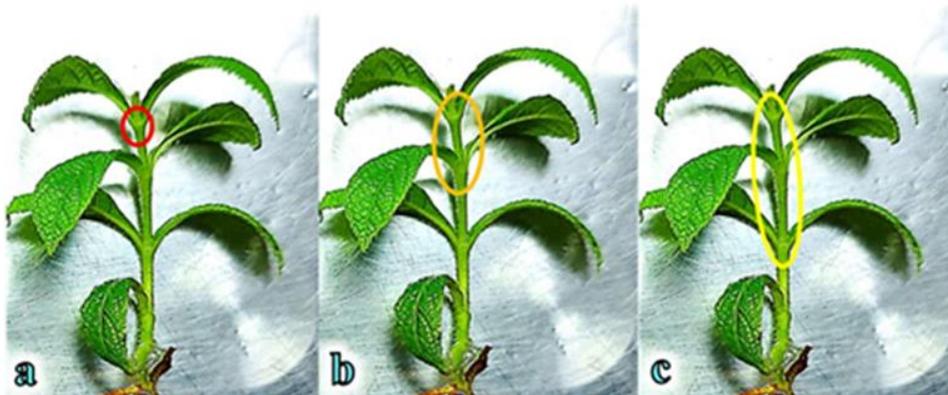
### Tres fuentes de segmentos de tallo sin yema apical

- Sin yema apical con un entrenudo
- Sin yema apical con dos entrenudos
- Sin yema apical con tres entrenudos

En la figura 5, se observan las tres variantes de segmentos de tallo cada uno sin yema apical y en la figura 6, se observa el corte para su obtención.



**Figura 5.** Segmentos de tallo individuales de teca sin yema apical. a) sin yema apical con un entrenudo b) sin yema apical con dos entrenudos. c) sin yema apical con tres entrenudos.



**Figura 6.** Extracción de segmentos de tallos sin yemas apicales. a) segmento de tallo sin yema apical y un entrenudo. b) segmento de tallo sin yema apical y dos entrenudos. c) segmento de tallo sin yema apical y tres entrenudos.

#### *Medio de cultivo*

Cada tipo de segmento de tallo fue establecido en BEIT de vidrio con capacidad de un litro, a los que se les agregaron 200 ml de medio de cultivo constituido por las sales básicas de Muraschige

y Skoog (MS), con 30 g/l de sacarosa y con las variantes de concentraciones de hormonas vegetales correspondientes a cada tratamiento (Cuadro 1). El pH se ajustó a 5.8, con ácido clorhídrico (HCl) a 0.5 N e hidróxido de potasio (KOH) a 0.5 N.

Por cada tipo de segmento de teca (tres fuentes de segmentos de tallo con yemas individuales, tres fuentes de segmentos de tallo con yema apical y tres fuentes de segmentos de tallo sin yema apical), se sembraron 20 tejidos en BEIT de un litro (9 recipientes/ tratamiento) con cada uno de los cuatro tratamientos obtenidos de la combinación de las hormonas 6-BAP y GA<sub>3</sub>. En total, se establecieron 36 BEIT en el Experimento 1.

Al finalizar la siembra de los segmentos de tallo se procedió a sellar con cinta plástica transparente la base inferior de la tapa de rosca de los BEIT para evitar la posible contaminación causada por microorganismos que se encuentran en el ambiente.

**Cuadro 1.** Cuatro variantes de medios de cultivo empleados en la fase de multiplicación de segmentos de tallo de teca

| Tratamientos   | Reguladores de crecimiento      |  |
|----------------|---------------------------------|--|
|                | *6-BAP<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | **GA <sub>3</sub><br>(mg L <sup>-1</sup> ) |
| T <sub>1</sub> | 0.5                             | 0.05                                       |
| T <sub>2</sub> | 0.5                             | 0.1  |
| T <sub>3</sub> | 1                               | 0.05                                       |
| T <sub>4</sub> | 1                               | 0.1  |

\* 6-Bencil amino purina, \*\*Ácido giberélico

Posteriormente los BEIT se trasladaron al cuarto de crecimiento donde se garantizó una intensidad de luz de 2000 lux y 12 horas luz natural. Además, diariamente se realizó inmersión a los tejidos por 2 minutos en los 28 días que estuvieron establecidos.

#### *Variable evaluada*

A los 28 días después de haberse realizado la siembra de segmentos de tallo, se evaluó la variable número de hojas a 15 segmentos de tallo por cada BEIT establecido según el tipo de segmentos.

**Número de hojas:** Se contabilizó de forma visual el número de hojas nuevas producidas por los segmentos de tallo. En plantas como la teca, la producción de hojas por planta es muy importante, porque en la base del pecíolo, se encuentra una yema axilar que brotará cuando se separe de la planta y en el caso de los segmentos de tallo que tienen su yema apical, al entrar en contacto con los constituyentes del medio de cultivo líquido o semisólido continuaran con su crecimiento.

#### *Diseño estadístico*

En el experimento 1, se estableció un Diseño Completo al Azar (DCA) con una sola replica al que se le realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos, se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan  $\alpha = 0.05$ . Los datos se procesaron y analizaron en el paquete estadístico INFOSTAT versión 2020.

#### **4.4.2. Experimento 2. Respuesta morfogénica a la densidad de siembra**

Se estudió la respuesta en el crecimiento de segmentos de tallo por efecto de la densidad de siembra de 30, 40, 50 y 60 segmentos por BEIT de tres litros de capacidad. Se sembraron 30, 40, 50 y 60 segmentos de yemas apicales y 30, 40, 50 y 60 segmentos de yemas axilares. Cada uno conteniendo dos pares de hojas. En este experimento, se empleó el medio de cultivo que resultó mejor para la emisión de hojas en las plantas formadas en el experimento 1, el medio de cultivo del tratamiento que contenía  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP y  $0.10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$

#### *Variables evaluadas*

A los 28 días después de haberse establecido el experimento 2, se evaluaron las siguientes variables:

**Número de hojas:** Se contabilizó de forma visual el número de hojas producidas por los segmentos de tallo.

**Longitud del tallo:** Se midió con una regla milimétrica en cm, una vez extraídas las plantas bajo condiciones de asepsia en la cámara de flujo laminar; considerando la longitud de la base de la planta hasta la yema apical. En el caso de los segmentos de tallos que para efectos de estudio se les eliminó la yema apical, se midió la longitud del brote principal axilar.

### *Diseño estadístico*

Para evaluar el efecto de los tratamientos, se utilizó un DCA con un arreglo bifactorial 4 x 2 (4 tipos de densidad de siembra y 2 tipos de yemas) para un total de 8 tratamientos, requiriéndose en las 4 densidades de siembra un número de 180 tejidos y en los dos tipos de yemas 360 tejidos. Como unidad experimental se consideró un biorreactor BEIT con capacidad de 3000 ml y después, de 28 días, se evaluaron 15 tejidos por cada tratamiento.

A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y para determinar las mejores medias de los tratamientos, se empleó la prueba de rangos múltiples de Duncan  $\alpha = 0.05$ . Los datos se procesaron y analizaron en el paquete estadístico INFOSTAT versión 2020.

#### **4.5. Fase de enraizamiento**

En esta fase, se indujo al desarrollo de un sistema radicular adecuado que permita el buen crecimiento de los tejidos micropropagados en BEIT.

##### **4.5.1. Experimento 3. Respuesta rizogénica de segmentos de tallos**

###### *Medio de cultivo*

En este experimento, se requirió 350 segmentos de tallo apicales y 350 de tallo axilares, de los cuales fueron extraídos de cada BEIT proveniente del experimento pasado, dentro de la cámara de flujo. Se establecieron 5 variantes de medios de cultivo de las cuales cuatro contienen diferentes concentraciones de la fitohormona AIA y un testigo (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Cinco variantes de medios de cultivo empleados en la fase de enraizamiento de segmentos de tallo de teca

| <b>Tratamientos</b>                   | <b>Niveles</b>                                  |
|---------------------------------------|---|
| <b>Variantes de Medios de cultivo</b> | <b>Concentración de AIA (mg L<sup>-1</sup>)</b> |
| <b>1</b>                              | 0   |
| <b>2</b>                              | 0.25  |
| <b>3</b>                              | 0.5   |
| <b>4</b>                              | 0.75  |
| <b>5</b>                              | 1   |

\* Ácido indol acético

### ***Variables evaluadas***

A las cuatro semanas, se evaluaron las siguientes variables:

**Número de hojas:** Se contabilizó de forma visual el número de hojas producidas por los segmentos de tallo.

**Longitud del tallo:** Se realizó las medidas con una regla milimétrica una vez extraídas las plantas bajo condiciones de asepsia en la cámara de flujo laminar, considerando la longitud de la base de la planta hasta la yema apical. En el caso de los segmentos de tallos que para efectos de estudio se les eliminó la yema apical, se midió la longitud del brote principal axilar en cm.

**Número de raíces:** Se contabilizó de forma visual el número de raíces producidas por los segmentos de tallo.

**Vigor de las plantas:** Se definieron tres escalas de vigor que fueron elaboradas en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Universidad Nacional Agraria (UNA), según las expresiones morfológicas de la planta *in vitro* de teca:

- **Vigor bajo:** Hojas del segundo entrenudo con ancho de  $< 0.50$  cm y largo  $<$  de 1 cm y longitud de tallo  $<$  de 8 cm.
- **Vigor mediano:** Hojas del segundo entrenudo con ancho entre 0.50 y 1 y largo entre 1 y 2 cm, con longitud de tallo entre 8 y 10 cm.
- **Vigor bueno:** Hojas del segundo entrenudo con ancho  $>$  de 1cm y largo  $>$  de 2 cm, con longitud de tallo  $>$  de 10 cm.

En la figura 7, se observan plántulas y hojas del segundo entrenudo de acuerdo con la categoría de vigor antes mencionada.



**Figura 7.** Vigor de plántulas y hojas de teca del segundo entrenudo en la fase de enraizamiento. a) Bajo vigor, b) Vigor mediano c) Buen vigor.

#### *Diseño estadístico*

El diseño estadístico y el análisis de varianza utilizado para determinar la diferencia entre medias, así como el programa estadístico, fue similar al utilizado en la fase de multiplicación. Por cada tratamiento se sembraron 70 segmentos de tallo y el análisis estadístico se realizó por tipo de yema (con yema apical o sin yema apical) en BEIT con capacidad de 3000 ml, empleándose 350 segmentos de tallo con yema apical en los cinco tratamientos y un número similar para la siembra de los segmentos de tallo sin yema apical. En total se sembraron 700 segmentos de tallo en 10 BEIT y después de cuatro semanas se evaluaron 30 plantas por cada tratamiento.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Experimento 1. Respuesta morfológica de segmentos de tallo

En la fase de multiplicación se estudió la respuesta de tres tipos de segmentos de tallo (segmentos individuales, segmentos que contenían la yema apical y segmentos con yemas axilares) cada uno de ellos constituido con variantes de uno, dos o tres micronudos.

Los tipos de segmentos de tallo se extrajeron de plantas formadas en medio semisólido contenido en frascos de vidrio con volumen de 200 ml. Cada fuente de micronudo se inoculó en biorreactores modelo BEIT descrito por Castro y Maradiaga (2015) que contenían cuatro variantes de medio de cultivo constituido por las sales básicas de Murashige y Skoog (1962) y las adiciones 0.50 y 1.0 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP combinadas respectivamente con 0.05 y 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>.

#### 5.1.1. Tipos de segmentos de tallos

##### Tres fuentes de segmentos de tallos con yemas individuales

La yema apical individual tuvo la menor respuesta en número de hojas en el tratamiento que se le adicionaron 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP y 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> con una media de 1.87 hojas producidas, aunque resultó igual estadísticamente a los tratamientos que contenían 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP más 0.05 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> y la combinación de 1.00 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP con 0.05 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> con medias respectivas de 2.47 y 2.53 hojas.

En las yemas axilares individuales del segundo entrenudo los brotes principales lograron una media de producción de hojas de 3.27 en la variante de medio de cultivo que contenía 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP con 0.05 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> superando estadísticamente a las obtenidas en las variantes de medios de cultivo que se le adicionaron 1.00 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP combinado con 0.05 o 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> con medias respectivas de 2.40 y 2.60 hojas.

Las yemas individuales que se obtuvieron del tercer entrenudo presentaron similar comportamiento estadístico en las medias de número de hojas de los brotes principales en los cuatro tratamientos, como se presentan en los resultados del cuadro 3.

**Cuadro 3.** Resultados de número de hojas producidas en tres fuentes de yemas individuales establecidas en cuatro variantes de medios de cultivo a las cuatro semanas en fase de multiplicación

| Tratamientos   | Reguladores de crecimiento |                       | Yemas individuales |                   |                  |
|----------------|----------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|------------------|
|                | 6-BAP                      | GA <sub>3</sub>       | Yema apical        | Segundo entrenado | Tercer entrenado |
|                | (mg L <sup>-1</sup> )      | (mg L <sup>-1</sup> ) |                    |                   |                  |
| T <sub>1</sub> | 0.50                       | 0.05                  | 2.47 ab            | 3.27 a            | 2.67 a           |
| T <sub>2</sub> | 0.50                       | 0.10                  | 1.87 b             | 2.80 ab           | 2.33 a           |
| T <sub>3</sub> | 1.00                       | 0.05                  | 2.53 ab            | 2.40 b            | 2.00 a           |
| T <sub>4</sub> | 1.00                       | 0.10                  | 2.87 a             | 2.60 b            | 3.40 a           |
| CV             |                            |                       | 20.27              | 12.87             | 25.70            |

Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

Las respuestas en número de hojas de las yemas apicales presentaron menor media en la variante de medio de cultivo que contenía la menor concentración de 6-BAP y la mayor concentración de GA<sub>3</sub>, mientras que cuando se emplearon yemas individuales del segundo entrenado se obtuvo el mayor promedio de hojas en la variante de medio de cultivo que contenía las menores concentraciones de 6-BAP y GA<sub>3</sub>.

En el caso de yemas individuales del tercer entrenado, no se registraron diferencias estadísticas por efecto de los tratamientos. Sin embargo, la media del tratamiento 4 fue superior en comparación a los demás tratamientos, reflejando que con mayores concentraciones de 6-BAP y de GA<sub>3</sub> los brotes producen mayor número de hojas.

De los resultados anteriores, se ha comprobado que al emplear solo la yema apical para la multiplicación de teca es menor la producción de hojas, por tanto, es menor el coeficiente de multiplicación. La variable número de hojas es importante para evaluar el comportamiento de las yemas debido a que en el pecíolo se encuentran yemas axilares que al inducir las a brotar formarán una nueva planta.

En la figura 8, se observan las plantas formadas en la fase de multiplicación de teca a las cuatro semanas.



**Figura 8.** Plantas de teca en BEIT de 1 litro formadas en la fase de multiplicación a las cuatro semanas.

#### **Tres fuentes de segmentos de tallo con yema apical**

Los segmentos de tallos conformados por la yema apical y un par de hojas presentaron igual comportamiento estadístico en los cuatro tratamientos, obteniéndose medias en número de hojas entre 3.07 y 3.60. Segmentos de tallo que contenían la yema apical y dos pares de hojas lograron mayor media de número de hojas de 4.00 en el tratamiento que contenía  $0.50 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP más  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  y las menores medias en los tratamientos con  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP más  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  y  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP más  $0.10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  con medias respectivas de 2.40 y 2.00.

La yema apical con tres pares de hojas en los tratamientos que contenían  $0.50 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP más  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  y  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP más  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  con medias respectivas de 5.60 y 5.07 superaron a las medias de emisión de hojas obtenidas en los tratamientos  $0.50 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP más  $0.10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  y  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-BAP más  $0.10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  que lograron medias respectivas de 4.33 y 3.67. Los resultados del comportamiento estadístico de las tres fuentes de segmentos de tallo que contenían yema apical se presentan en el cuadro 4.

**Cuadro 4.** Resultados de número de hojas producidas en tres fuentes de segmentos de tallo con yemas apicales establecidas en cuatro variantes de medios de cultivo a las cuatro semanas en fase de multiplicación

| Tratamientos   | Reguladores de crecimiento     |  | Yemas apicales                     |                                      |                                       |
|----------------|--------------------------------|--|------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
|                | 6-BAP<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | GA <sub>3</sub><br>(mg L <sup>-1</sup> ) | Yema apical<br>con un<br>entrenado | Yema apical<br>con dos<br>entrenados | Yema apical<br>con tres<br>entrenados |
|                |                                |  |                                    |                                      |                                       |
| T <sub>1</sub> | 0.50                           | 0.05                                     | 3.07 ab                            | 4.00 a                               | 5.60 a                                |
| T <sub>2</sub> | 0.50                           | 0.10                                     | 3.60 a                             | 3.40 ab                              | 4.33 b                                |
| T <sub>3</sub> | 1.00                           | 0.05                                     | 3.53 a                             | 2.40 bc                              | 5.07 a                                |
| T <sub>4</sub> | 1.00                           | 0.10                                     | 3.27 a                             | 2.00 c                               | 3.67 b                                |
| CV             |                                |  | 11.19                              | 18.25                                | 5.35                                  |

Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

Los resultados obtenidos en número de hojas en los tres tipos de segmentos de tallos con yema apical fueron superiores al número de hojas logradas con segmentos de tallo con yemas individuales, esta respuesta pudo atribuirse a que las yemas individuales tienen menor reserva nutritivas contenidas en los tejidos cuyo efecto persiste después de las cuatro semanas.

En la figura 9, se presenta el modelo de biorreactores BEIT conteniendo los tres tipos de entrenados cada uno con su yema apical.



**Figura 9.** Plantas de teca formadas en la fase de multiplicación. Izquierda, a partir de yemas apicales y un par de hojas. Centro, a partir yemas apicales y dos pares de hojas. Derecha, a partir yemas apicales y tres pares de hojas.

### Tres fuentes de segmentos de tallo con yemas axilares

El número de hojas producidas por los brotes axilares principales que se formaron en los segmentos de tallo con un par de hojas se obtuvo una media de 2.35 hojas en el tratamiento que se le adicionaron 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP más 0.05 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, tratamiento que resultó significativamente inferior únicamente a la media de número de hojas de 3.35 que presentó el brote principal en el tratamiento con 1.00 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP más 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>.

En la variable número de hojas del brote principal las fuentes de segmentos de tallo que tenían dos o tres entrenudos no presentaron diferencias estadísticas en los cuatro tratamientos. En los segmentos de tallo que contenían dos entrenudos, los brotes principales que se formaron registraron un rango de medias entre 3.20 y 3.60 hojas, resultó inferior respecto a los segmentos de tallos con tres entrenudos con medias entre 3.60 y 4.30 hojas.

Tomando en cuenta el comportamiento estadístico de los diferentes segmentos de tallo en los cuatro tratamientos, consideramos que en la fase de multiplicación de teca se debe experimentar con otras variantes de medios de cultivo tanto en la adición sola o combinada de diferentes reguladores de crecimiento y las concentraciones en que se deben de agregar. En el cuadro 5, se presentan los resultados del comportamiento estadístico de las tres fuentes de segmentos de tallo.

**Cuadro 5.** Resultados de número de hojas producidas en tres fuentes de segmentos de tallo con yemas axilares establecidas en cuatro variantes de medios de cultivo a las cuatro semanas en fase de multiplicación

| Tratamientos   | Reguladores de crecimiento |                       | Yemas axilares   |                    |                     |
|----------------|----------------------------|-----------------------|------------------|--------------------|---------------------|
|                | 6-BAP                      | GA <sub>3</sub>       | Con un entrenudo | Con dos entrenudos | Con tres entrenudos |
|                | (mg L <sup>-1</sup> )      | (mg L <sup>-1</sup> ) |                  |                    |                     |
| T <sub>1</sub> | 0.50                       | 0.05                  | 2.35 b           | 3.20 a             | 3.60 a              |
| T <sub>2</sub> | 0.50                       | 0.10                  | 2.70 ab          | 3.50 a             | 3.90 a              |
| T <sub>3</sub> | 1.00                       | 0.05                  | 3.00 ab          | 3.50 a             | 4.30 a              |
| T <sub>4</sub> | 1.00                       | 0.10                  | 3.35 a           | 3.60 a             | 4.20 a              |
| CV             |                            |                       | 10.96            | 4.90               | 12.50               |

Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

En la Figura 10, se observan las plantas formadas en la fase de multiplicación de teca a partir de tres fuentes de yemas axilares.



**Figura 10.** Plantas de teca formadas en la fase de multiplicación. Izquierda, a partir de yemas axilares con un entrenudo. Centro, a partir yemas axilares con dos entrenudos. Derecha, a partir yemas axilares con tres entrenudos.

Un comportamiento generalizado de los diferentes segmentos de tallo empleados en el estudio de multiplicación en BEIT de un litro a las cuatro semanas, es que se presentó brotación axilar de una sola yema que fue la que logró formar una sola planta de teca y no presentaron síntomas de hiperhidricidad, contrario a lo reportado por Aguilar *et al.*, (2019) con el empleo de concentraciones de  $0.50 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP y la hormona Kinetina obtuvieron una brotación axilar de 2.6 con 60 tejidos y 3.5 con 30 tejidos y porcentajes de hiperhidricidad respectivos de 42 y 75%, esta respuesta la obtuvieron empleando biorreactores modelo RITA® aplicando dos frecuencias de inmersión cada 24 horas cada una con duración de un minuto y permanencia de los tejidos por 45 días.

Un estudio por parte de Quiala *et al* (2012) demostró que el empleo de BIET, durante la fase de multiplicación de teca en ausencia de la hormona 6-Bencilaminopurina (6-BAP) o con una concentración de  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ , permite obtener plantas sin desórdenes fisiológicos y con alta supervivencia durante la fase de aclimatación.

Un factor fisiológico que posiblemente limitó la brotación de todos los tipos de yema que crecieron en los BEIT puede estar determinado por la composición y concentraciones de reguladores del crecimiento que se emplearon en nuestro estudio como las citoquininas (6-BAP) y el ácido

giberélico (GA<sub>3</sub>), debido a que el uso posterior de AIA en el experimento 3 generó una mejor brotación de hojas.

En el primer experimento de multiplicación solo se evaluó la producción de hojas de las plantas formadas de cada tipo de tejido, para conocer si las variantes de medios de cultivo tenían un efecto determinante en la eliminación de la dominancia tanto en los segmentos de tallo que no se les eliminó la yema apical (yemas individuales, con dos o tres entrenudos) como en el caso de los segmentos a las que se les eliminó la yema apical (yemas individuales o las conformadas por dos o tres entrenudos).

Debido a los resultados obtenidos en el experimento 1, la respuesta de los diferentes tipos de tejidos con los que se experimentó en los biorreactores BEIT demostró que la teca tiene la capacidad de activar morfológicamente los brotes de yemas contenidos en segmentos de tallos ya sea de forma individual, con dos o tres entrenudos.

## **5.2. Experimento 2. Respuesta morfogénica a la densidad de siembra**

En el experimento anterior, la respuesta en número de hojas de los segmentos con yemas individuales, segmentos de tallo con yema apical y segmentos de tallo con yemas axilares, se obtuvo un buen comportamiento estadístico en el tratamiento que contenía 1.00 mg L<sup>-1</sup> de 6- BAP más 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, se seleccionó como variante de medio de cultivo para definir la mejor densidad de siembra de segmentos axilares y apicales cada uno conteniendo dos pares de hojas y sembradas de forma individual en BEIT con capacidad de 3 litros.

En la evaluación del experimento de densidad de siembra, se incorporó la variable longitud de tejido, en el caso de las yemas axilares, se evalúa en base a la brotación del tallo principal y los tejidos que contenía yemas apicales la longitud se mide teniendo como base los nuevos entrenudos producidos por los segmentos de tallo.

En la variable longitud de planta no se presentaron diferencias estadísticas entre las densidades de siembra de 30, 40, 50 y 60 tanto en segmentos de tallo de yemas axilares como de apicales. En número de hojas las yemas apicales con densidades de siembra de 30 y 40 segmentos de tallo (medias de 5.80 y 5.53) y las yemas axilares con 40 segmentos de tallos (media de 5.07), superaron significativamente a los segmentos de yemas axilares con densidades de siembra de 30 y 50 con

número de hojas respectivo de 3.53 y 3.73. Las densidades de siembra en número de 50 y 60 segmentos de tallo con yemas apicales y la densidad de 60 segmentos con yemas axilares el rango de las medias de número de hojas fue entre 4.40 y 4.47. Los resultados de densidad de siembra se presentan en el cuadro 6.

**Cuadro 6.** Resultados de longitud de planta y número de hojas producidas en segmentos de tallo con dos entrenudos en yemas axilares y apicales inoculadas en BEIT de tres litros a las cuatro semanas en fase de multiplicación

| Tratamientos | Densidad | Tipo por Yema | Longitud de planta | Número de hojas |
|--------------|----------|---------------|--------------------|-----------------|
| T1           | 30       | Yema axilar   | 3.63 a             | 3.53 c          |
| T2           | 30       | Yema apical   | 3.60 a             | 5.80 a          |
| T3           | 40       | Yema axilar   | 3.37 a             | 5.07 ab         |
| T4           | 40       | Yema apical   | 3.28 a             | 5.53 ab         |
| T5           | 50       | Yema axilar   | 2.40 a             | 3.73 c          |
| T6           | 50       | Yema apical   | 2.70 a             | 4.53 bc         |
| T7           | 60       | Yema axilar   | 3.30 a             | 4.40 bc         |
| T8           | 60       | Yema apical   | 3.00 a             | 4.47 bc         |
| CV           |          |               | 19.88              | 12.95           |

Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

Los resultados obtenidos demuestran que es posible mejorar la eficiencia de la micropropagación de teca cuando se emplean biorreactores con capacidad de tres litros, estableciendo 60 yemas axilares o apicales con dos entrenudos, porque significa un ahorro en cantidad de biorreactores como de sus accesorios y además se reduce la cantidad de medios de cultivo y el espacio requerido en los estantes donde se instala el sistema de inmersión.

Castro y Maradiaga (2015) en plátano CEMSA  $\frac{3}{4}$  determinaron que el número de brotes axilares no se registraron diferencias significativas por efecto de las densidades de siembra de 30, 40, 45 y 50 brotes por BEIT, pero observaron que con la siembra de 50 brotes axilares la media de número de hojas fue menor y mayor el alargamiento del pseudotallo como respuesta a la competencia de las plantas por la luz dentro del BEIT.

La teca tiene entre la base del pecíolo y el tallo yemas axilares en estado de dormancia que se activarán si se separan en entrenudos, mecanismo que será de respuesta rápida o lenta en dependencia de las condiciones ambientales dentro de los recipientes de propagación *in vitro*, de las concentraciones y del tipo de reguladores de crecimiento. Esta respuesta morfológica nos indica que es importante inducir a la planta a producir hojas en cantidad suficiente que garantice obtener un buen coeficiente de multiplicación considerando que la conformación pecíolo y segmento de tallo es la fuente de producción de nuevas plantas.

En la figura 11, se observan plantas formadas a las cuatro semanas en BEIT de tres litros obtenidas a partir segmentos de tallo con dos entrenudos en yemas axilares y yemas apicales sembrados a una densidad de 60 segmentos BEIT de tres litros.



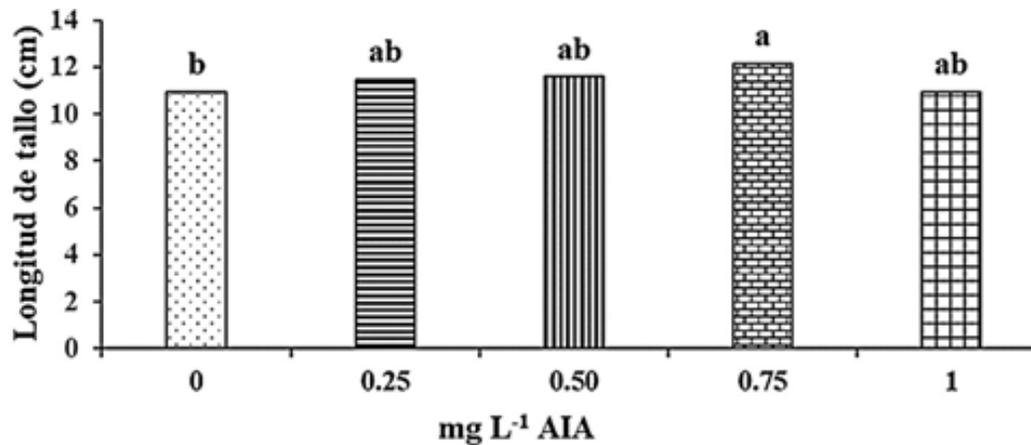
**Figura 11.** Plantas formadas a las cuatro semanas en fase de multiplicación a partir segmentos de tallo con dos entrenudos inoculados a una densidad de 60 yemas en BEIT de tres litros. Izquierda yemas axilares. Derecha yemas apicales.

En el presente estudio en los dos experimentos de multiplicación en los que se emplearon medios de cultivo de consistencia líquida y la adición de citoquinina (6-BAP) y giberelina, no se observó la formación de plantas con alteraciones fisiológicas como las reportadas por Aguilar *et al.*, (2019) quienes afirman que las condiciones de cultivo que promueven un crecimiento rápido a menudo dan como resultado plantas estructural y fisiológicamente anormales.

### 5.3. Experimento 3. Respuesta rizogénica de los segmentos de tallo

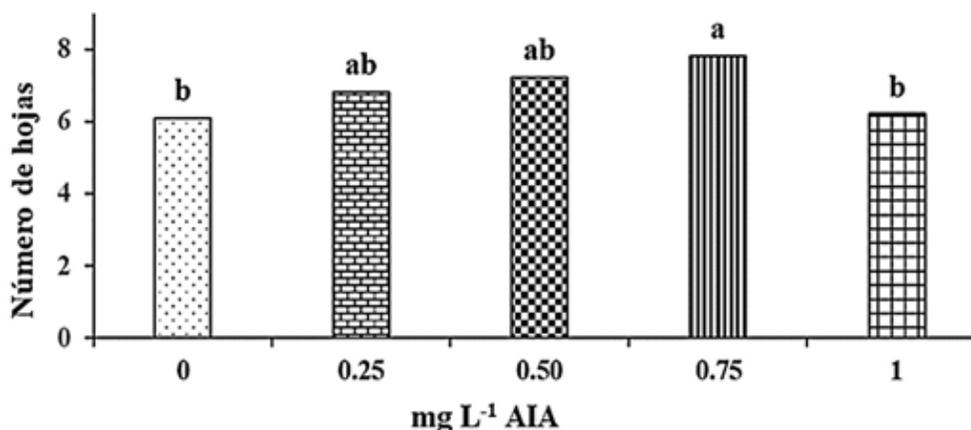
#### 5.3.1. Segmentos de tallo de dos entrenudos con yema apical

En longitud de tallo no se presentaron diferencias estadísticas entre las medias obtenidas en el tratamiento testigo que no contenía AIA y los tratamientos que se le adicionaron 0.25, 0.50 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA con medias respectivas de 10.94, 11.45, 11.58 y 11.15 cm. El tratamiento testigo únicamente fue superado por la media 12.15 cm que se obtuvo en el tratamiento con 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Los resultados se presentan en la figura 12.



**Figura 12.** Efecto en la longitud del tallo de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas apicales. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

En la variable número de hojas se presentaron diferencias estadísticas entre la media de 7.80 hojas producidas en el tratamiento con 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA y las medias de 6.20 y 6.10 hojas que se obtuvieron en los tratamientos con 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA y el tratamiento testigo respectivamente, aunque los dos últimos tratamientos descritos resultaron con similar respuesta estadística a los tratamientos que contenían 0.25 y 0.50 mg L<sup>-1</sup> de AIA con medias respectivas de 6.80 y 7.20 respectivamente. En la figura 13, se presentan los resultados.



**Figura 13.** Número de hojas producidas en plantas de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas apicales. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

En la variable número de raíces no se presentaron diferencias estadísticas entre las medias de los diferentes tratamientos con valores de las medias entre 1.45 y 185 raíces. De acuerdo con estos resultados, consideramos que el AIA agregado en las concentraciones descritas y su efecto como hormona vegetal no posee el efecto adecuado para el enraizamiento de plantas *in vitro* de teca.

En relación con la producción de raíces obtenidas en las plantas se considera que fue mínima, debido a que, en la teca, el AIA por sí sola no induce lo suficientemente la rizogénesis y porque el genotipo de la teca tiene una tendencia morfogénica que limita el enraizamiento en condiciones *in vitro*.

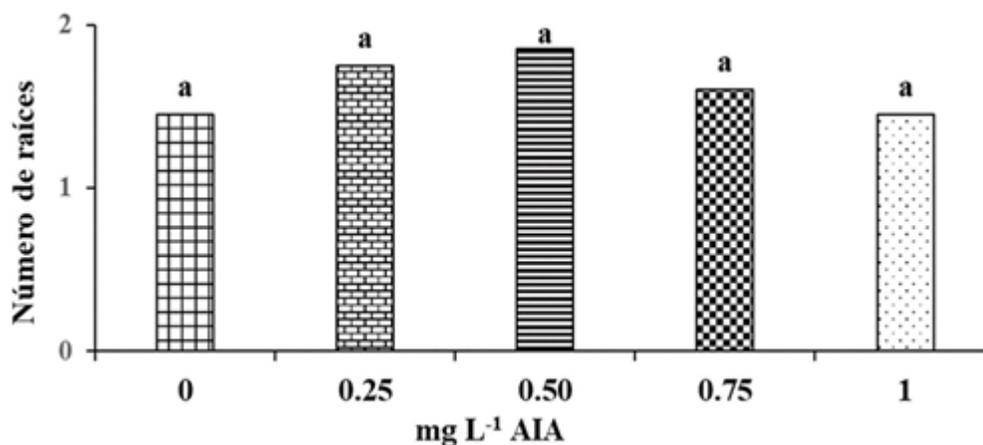
Autores como Daquinta *et al.*, (2021) reportan que el enraizamiento de las plantas *in vitro* de teca, la realizaron en condiciones *in vitro* tratadas con 1000 mg L<sup>-1</sup> de ANA y 1000 mg L<sup>-1</sup> de AIB que presentaron la mayor cantidad de raíces (2) y mayor longitud de estas (3.80 cm).

Mendoza *et al.*, (2007) observaron que después de 4 semanas de cultivo *in vitro* de teca, el enraizamiento tuvo lugar sólo en presencia de auxina o putrescina. La auxina IBA solo indujo 30 - 50% de enraizamiento, produciendo raíces hinchadas y quebradizas. La adición de solo putrescina (160 mg L<sup>-1</sup>) promovió alrededor del 70% del enraizamiento. El enraizamiento alcanzó el 100% cuando se combinó putrescina con 0.5 mg L<sup>-1</sup> IBA.

Una alternativa para estudios posteriores es experimentar con combinaciones de otros tipos de auxinas o realizar la fase de enraizamiento en condiciones *ex vitro*, como lo sugieren Aguilar *et al.*, (2019) porque la micropropagación de la teca se puede simplificar en dos fases *in vitro*, el establecimiento y la multiplicación; seguido de enraizamiento *ex vitro* y la aclimatación. Esto implicaría una reducción de los costes de producción, ya que la mayor parte de la multiplicación se realizaría en biorreactores RITA®.

Aldelnour y Muñoz (2005), empleando brotes apicales con 2 o 3 nudos producidos durante la fase de multiplicación transferidos a medios de enraizamiento con la concentración completa de las sales MS o reducida a la mitad y en ausencia de reguladores de crecimiento, observaron que únicamente el 8% y el 18% respectivamente, desarrollaron raíces. Además, Castro *et al.*, (2002) señalan que en teca los porcentajes de enraizamiento *in vitro* son muy bajos, particularmente si se requiere propagar masivamente esta especie forestal.

En la figura 14, se presentan los resultados de enraizamiento en plantas *in vitro* de teca y en la figura 15, se observan plantas regeneradas a partir de yemas apicales.



**Figura 14.** Efecto en el enraizamiento de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas apicales. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

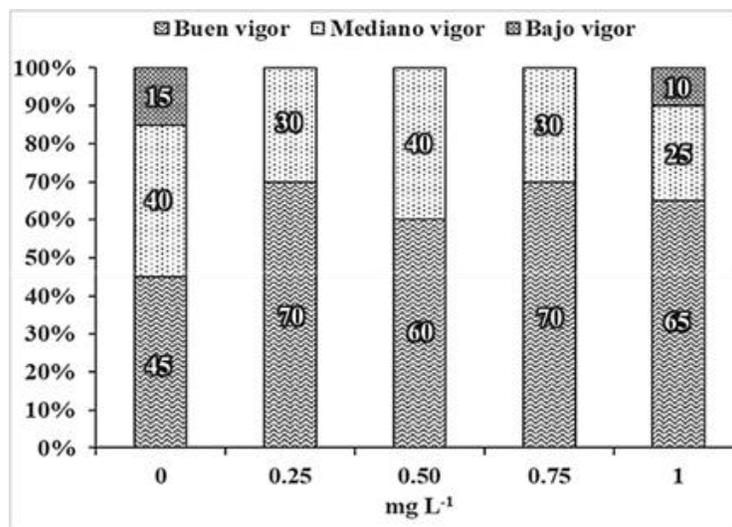


**Figura 15.** Plantas formadas en BEIT de tres litros a partir segmentos de tallo con dos entrenudos con yema apical a las cuatro semanas en fase de enraizamiento.

Por la respuesta favorable de los segmentos de tallo de teca en la fase de enraizamiento, fue posible diferenciar el crecimiento de las plantas en tres categorías de vigor: a) con bajo vigor, plantas con longitud de tallo entre 3 y 6 cm. b) mediano vigor, plantas con longitud de tallo entre 7 y 9 cm. c) buen vigor superior a los 10 cm.

En los tratamientos que contenían AIA las plantas presentaron un buen vigor en porcentajes comprendidos entre el 60 y 70%. En los tratamientos que se les adicionaron 0.25, 0.50 y 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA las plantas evaluadas no presentaron la categoría de crecimiento de bajo vigor. Solo en los tratamientos testigo y con 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA se observaron las tres categorías de vigor.

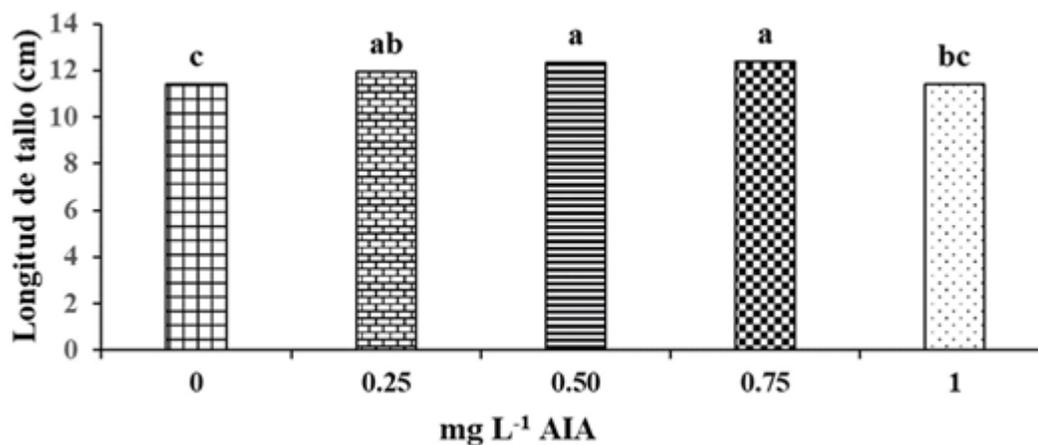
En la figura 16, se presentan los porcentajes de las tres categorías de vigor de las plantas *in vitro* de teca.



**Figura 16.** Vigor de plantas *in vitro* de teca (Buen vigor, mediano y bajo vigor) obtenidas de segmentos de tallo con su yema apical por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Valores en porcentajes.

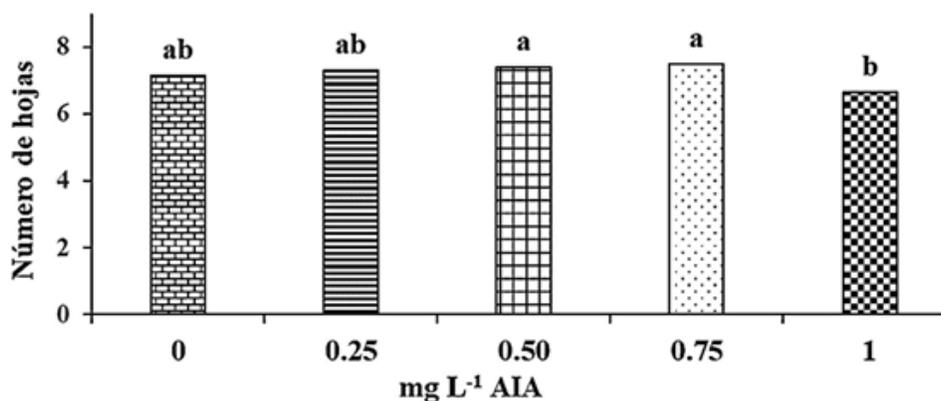
### 5.3.2. Segmentos de tallo de dos entrenudos sin yema apical

Los tratamientos que se le adicionaron dosis de 0.50 y 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA con medias respectivas en longitud de planta de 12.35 y 12.37 cm superaron significativamente a las medias logradas en los tratamientos sin adición de AIA y con 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA. El tratamiento con 0.25 mg L<sup>-1</sup> de AIA solo superó estadísticamente al tratamiento testigo (10.96) con medias respectivas de 11.96 y 11.40 cm. Los resultados se presentan en la figura 17.



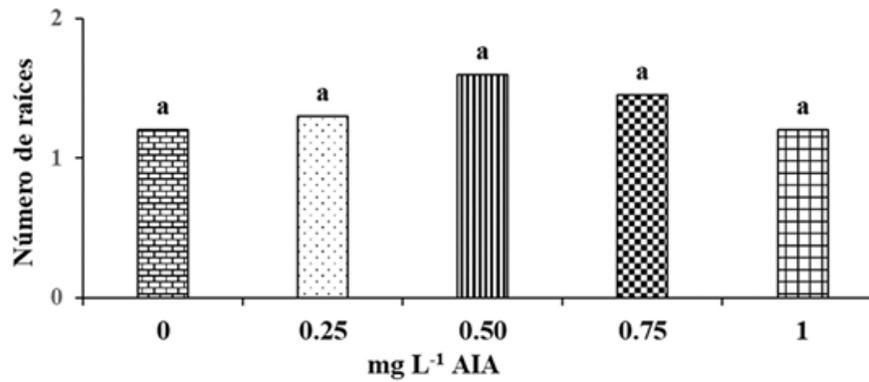
**Figura 17.** Efecto en la longitud del tallo de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas axilares. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

En la variable número de hojas se presentaron diferencias estadísticas que favorecieron a los tratamientos que contenían 0.50 y 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA con medias respectivas de 7.40 y 7.50 en comparación a la media de 6.65 que se obtuvo en el tratamiento con 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA, pero la media del tratamiento que contenía mayor concentración de AIA resultó similar en respuesta estadística a las medias de 7.15 y 7.30 hojas que presentaron respectivamente los tratamientos testigo y con 0.25 mg L<sup>-1</sup> de AIA. En la figura 18, se presentan los resultados estadísticos de la variable número de hojas.



**Figura 18.** Efecto en el número de hojas producidas en plantas de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas axilares. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

En la evaluación de la variable número de raíces por planta no se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos. Los valores de las medias oscilaron entre 1.20 y 1.60 raíces. Los resultados se observan en la figura 19.



**Figura 19.** Efecto en número de raíces producidas en plantas de teca por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L<sup>-1</sup> de AIA. Las plantas se formaron a partir de yemas axilares. Letras desiguales difieren para  $p \leq 0.05$ .

En la figura 20, se observan plantas regeneradas a partir de segmentos de tallos sin yemas apical.



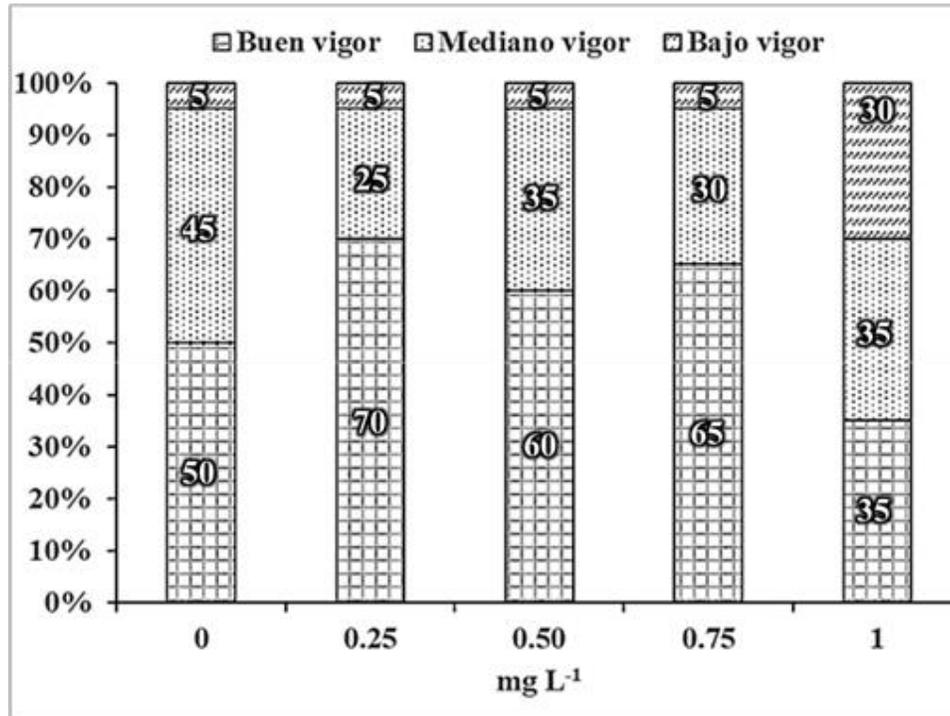
**Figura 20.** Plantas formadas en BEIT de tres litros a partir segmentos de tallo con dos entrenudos sin yema apical a las cuatro semanas en fase de enraizamiento.

El porcentaje plantas que presentaron buen vigor se presentó entre los porcentajes del 50 al 70% en los tratamientos sin adición de AIA y a los que contenían 0.25, 0.50 y 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA.

En estos mismos tratamientos el porcentaje de plantas con bajo vigor fue del 5%. Mientras que en el tratamiento con 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA el porcentaje de plantas con buen vigor y bajo vigor fue de 35

y 30% respectivamente. Se obtuvieron plantas con mediano vigor en porcentajes que oscilaron los entre el 25 y 45%.

En la figura 21, se presentan los porcentajes de las tres categorías de vigor de las plantas de teca en fase de enraizamiento en los cinco tratamientos.



**Figura 21.** Vigor de plantas *in vitro* de teca (Buen vigor, mediano y bajo vigor) obtenidas de segmentos de tallo con yema axilares por la adición de concentraciones de 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA.

Las plántulas obtenidas en la fase de enraizamiento fueron mejores a las obtenidas en los experimentos de multiplicación, indicando que la teca responde mejor a las adiciones de AIA que a las combinaciones de 6-BAP con GA<sub>3</sub>.

## VI. CONCLUSIONES

En la fase de multiplicación, la siembra de yemas apicales individuales en BEIT de un litro fue mejor la respuesta en producción de hojas con concentraciones hormonal de 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP con 0.05 y 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> o las concentraciones de 1.00 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP y 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Las yemas axilares del segundo entrenudo emitieron mayor número de hojas en los medios de cultivo que se les agregaron 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP combinados con 0.05 o 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Yemas axilares del tercer entrenudo mostraron similar respuesta estadística en los 4 tratamientos.

La respuesta estadística en número de hojas con la siembra de segmentos de tallo que contenían yemas apicales con un entrenudo fue similar en todas las combinaciones de 6-BAP y de GA<sub>3</sub>. Los segmentos de tallo conteniendo yemas apicales con dos entrenudos produjeron mayor cantidad de hojas 0.50 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP agregado con 0.05 o 0.10 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Segmentos de tallo con yemas apicales de dos entrenudos fue mejor la producción de hojas en los medios de cultivo que contenían 0.50 o 1.00 mg L<sup>-1</sup> de 6-BAP ambos adicionados con 0.05 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>.

La siembra individual de yemas apicales o yemas axilares con dos entrenudos a densidades de 30, 40, 50 y 60 tejidos por BEIT de tres litros presentaron igual comportamiento estadístico en la variable longitud de planta. En la variable número de hojas producidas fue mejor estadísticamente con densidades de 30 tejidos de yemas apicales y con densidad de 40 tejidos con yemas apicales y yemas axilares.

En la fase de enraizamiento, la siembra de tejidos de yemas apicales y yemas axilares con dos entrenudos en BEIT de tres litros, resultaron favorables las adiciones de 0.25, 0.50 y 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA en las variables longitud de plantas, número de hojas y número de raíces.

En tejidos de yemas apicales con dos entrenudos en los tratamientos de 0.25, 0.50 y 0.75 mg L<sup>-1</sup> de AIA, las plantas presentaron la categoría de buen vigor con porcentajes entre 60 y 70%. En tejidos con yemas axilares y dos entrenudos en los tratamientos 0.25, 0.50 y 0.75 que se les agregó AIA, se obtuvo buen vigor con porcentajes de plantas entre el 60 y el 70%.

## VII. RECOMENDACIONES

Experimentar en la fase de multiplicación, el efecto del AIA en la morfogénesis de yemas apicales y axilares, debido a que, con el uso de esta hormona en la fase de enraizamiento, se logró observar una excelente brotación de hojas.

Extender la fase de enraizamiento de cuatro a seis semanas de permanencia en los BEIT, porque en las últimas 2 semanas, se observó una gran respuesta en los sistemas radiculares de los tejidos.

Estudiar la respuesta en la producción de raíces, longitud y número de hojas de las plantas *in vitro* en fase de aclimatación, ya que en este estudio no se disponían de las condiciones requeridas para la supervivencia de las plántulas de teca en vivero.

Para efectos de propagación comercial consideramos que empleo de segmentos de tallo con o sin yema apical ambas con dos o tres entrenudos presentaron buena respuesta en solo cuatro semanas.

## VIII. LITERATURA CITADA

- Abdelnour A. y Muñoz A. (2005). Micropropagación de *Tectona grandis* L. F. *Revista Forestal Mesoamericana* Kurú 2(5).  
[https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/7222/Micropropagacion\\_teca.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/7222/Micropropagacion_teca.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Abdelnour A. y Muñoz A. (2012). Micropropagación de teca (*Tectona grandis* L.f). *Revista Forestal Mesoamericana* Kurú, 2(5), 1–11.  
<https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/541/467>
- Aguilar M. y Cruz R. (2014). *Propuesta de Biorreactores económicos de inmersión temporal (BEIT) para la producción de plantas in vitro a escala comercial*. VII Edición del Premio Nacional a la innovación. Managua, NIC.
- Aguilar M., Garita K., Kim J. y Moon H., (2019). Simple Protocol for the Micropropagation of Teak (*Tectona grandis* Linn.) in Semi-Solid and Liquid Media in RITA® *Bioreactors and ex Vitro Rooting*. *American Journal of Plant Sciences*, 10(7), 1121-1141.  
<https://doi.org/10.4236/ajps.2019.107081>.
- Albarrán, J., Salazar, E., Trujillo, I., Vegas, A., González, A., Díaz, A., & Silva, A. (2014). Biorreactores de inmersión temporal para la propagación masiva de plantas. *INIA Divulga. Revista de difusión de tecnología agrícola, pecuaria, pesquera y acuícola*, 60.  
[http://sian.inia.gob.ve/inia\\_divulga/divulga\\_28/rid28\\_albarran\\_2-8.pdf](http://sian.inia.gob.ve/inia_divulga/divulga_28/rid28_albarran_2-8.pdf)
- Aragón C., Escalona M., Capote I., Pina D., Cejas I. y González-Olmedo J. (2004). Evaluación del efecto de las condiciones generadas por Biorreactores de inmersión temporal sobre enzimas y procesos clave del metabolismo del carbono en plantas in vitro de plátano cv. CEMSA 34. *Biotecnología vegetal*, 4(3).  
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/413/html>
- Banco Central de Nicaragua. (2019). *Plan de Producción Consumo y Comercio Ciclo 2018 – 2019*.  
<https://www.bcn.gob.ni/sites/default/files/noticias/Plan%20de%20Producci%C3%B3n%20Consumo%20y%20Comercio%20Ciclo%202018%20-%202019.pdf>
- Berrocal A. y Agüero P. (2006). Aplicación de tintes en madera de *Tectona grandis* L. F. preservada con Wolmanit CX-10 para homogenizar su color. *Revista Forestal Mesoamericana* Kurú, 3(7), 86-91.  
<https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/532/458>
- Camino Velozo, R. (2018). *Diagnóstico del sector forestal en Nicaragua: Movilizando el sector forestal y atrayendo inversiones*. BID.  
[file:///C:/Users/User/Downloads/Diagn%C3%B3stico\\_del\\_sector\\_forestal\\_en\\_Nicaragua\\_Movilizando\\_el\\_sector\\_forestal\\_y\\_atrayendo\\_inversiones\\_es\\_es.pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/Diagn%C3%B3stico_del_sector_forestal_en_Nicaragua_Movilizando_el_sector_forestal_y_atrayendo_inversiones_es_es.pdf)
- Carbonell, L. S., Lara, I. C., & Paredes, F. R. (2016). Los brasinoesteroides. *Revista Ciencia*, 80-86.  
[https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/57\\_4/pdf/brasinoesteroides.pdf](https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/57_4/pdf/brasinoesteroides.pdf)

- Castillo A., Ashfield R., Bentancor M., Bentancor L., Bonilla M., Ceppa M., Franco R., Silva N., Cabrera D., Rodríguez P. y Zoppolo R., (2019). Micropropagación de plantas en biorreactores de inmersión temporal (BIT). *Revista INIA Uruguay* 56, p. 88-91. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/12606/1/Revista-INIA-56-biotec.pdf>
- Castro D., Díaz J. y Linero J. (2012). Propagación clonal in vitro de árboles élite de teca. (*Tectona grandis* L. F.). *Revista Colombiana de biotecnología*. 4(1) 49-53. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/30089>
- Castro S. y Maradiaga E. (2015). Micropropagación tradicional y en biorreactores económicos de inmersión temporal del cultivar de plátano (*Musa spp.*) CEMSA 3/4 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio UNA. <https://repositorio.una.edu.ni/3282/1/tnf02c355.pdf>
- Cruz Cardona, R. Y. (2020). *Embriogénesis somática con explantes foliares de Coffea arabica cv. centroamericano y Coffea canephora cv. Conilon* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio UNA. <https://repositorio.una.edu.ni/4395/1/tnf62c957.pdf>
- Cruzat G. (2009). Resultados y lecciones en sistema de inmersión temporal en especies anuales, frutales y vides: Proyecto de innovación en Regiones Metropolitana, del Maule, del Biobío y de Los Ríos. [https://opia.fia.cl/601/articles-75552\\_archivo\\_01.pdf](https://opia.fia.cl/601/articles-75552_archivo_01.pdf)
- Daquinta M., Ramos L., Capote I., Lezcano Y., Trina, D., y Escalona, M. (2021). Micropropagación de la teca (*Tectona grandis* L. F.). *Revista forestal Centroamericana*, 10(35), 25-28. <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/10038/Micropropagacin.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Díaz, M. D. (2017). Las Hormonas Vegetales en las plantas. *Serie Nutrición Vegetal*, (88). Artículos Técnicos de INTAGRI. <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/las-hormonas-vegetales-en-las-plantas>
- Etienne H., y Berthouly M. (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69(3), 215-231. [https://www.researchgate.net/publication/225513071\\_Temporary\\_immersion\\_systems\\_in\\_plant\\_micropropagation](https://www.researchgate.net/publication/225513071_Temporary_immersion_systems_in_plant_micropropagation)
- Fichet, L. T. (2017). Biosíntesis de las fitohormonas y modo de acción de los reguladores de crecimiento. *Artículos Técnicos de INTAGRI*, 92(6). <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/biosintesis-de-las-fitohormonas-y-reguladores-de-crecimiento>
- Fonseca González, W. (2004). Manual para productores de Teca (*Tectona grandis* L f) en Costa Rica. <https://www.fonafifo.go.cr/media/1332/manual-para-productores-de-teca.pdf>
- Frometa, O. M., Morgado, M. M. E., & Gradaille, M. A. D. (2016). Efecto del tiempo de cultivo y volumen de medio de cultivo por explante en la multiplicación de *Gerbera jamesonii* en Sistemas de Inmersión Temporal. *Biotecnología Vegetal*, 16(1), 21 – 29. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/rt/printerFriendly/504/html>

- Garay Arroyo, A., de la Paz Sánchez, M., García-Ponce, B., Álvarez-Buylla, E. R., y Gutiérrez, C. (2014). La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Revista de educación bioquímica*, 33(1), 13-22. <https://www.scielo.org.mx/pdf/reb/v33n1/v33n1a3.pdf>
- Maderea. (2017, julio 10). *La madera de teca; propiedades y características*. <https://www.maderea.es/la-madera-de-teca-propiedades-y-caracteristicas/>
- MARENA. (2019, julio). *Causas de la deforestación y degradación forestal en Nicaragua*. [http://www.marena.gob.ni/Enderedd/wp-content/uploads/2019/11/Documento-causas-de-la-deforestacio%CC%81n-26\\_07\\_2019\\_VF.pdf](http://www.marena.gob.ni/Enderedd/wp-content/uploads/2019/11/Documento-causas-de-la-deforestacio%CC%81n-26_07_2019_VF.pdf)
- Martínez, H. (2015, marzo). *Teca (Tectona grandis L. f.): condiciones para su cultivo “Fomento de la reforestación comercial para la mejora y conservación de las reservas de carbono”*. FONAFIFO. [https://www.onfcr.org/wp-content/uploads/media/uploads/documents/ff\\_5\\_teca.pdf](https://www.onfcr.org/wp-content/uploads/media/uploads/documents/ff_5_teca.pdf)
- Mendoza J., Royani I. y Rugini E. (2007). Efficient method of micropropagation and in vitro rooting of teak (*Tectona grandis* L.) focusing on large-scale industrial plantations. *Annals of Forest Sciences* 64:73-78.
- MLR FORESTAL. (2021, enero 8). *El potencial económico de las plantaciones forestales en Nicaragua*. <https://mlr.com.ni/el-potencial-economico-de-las-plantaciones-forestales-en-nicaragua/>
- Montenegro, F., Kotman, F., y De Camino, R. (2013). Tecnologías disponibles para el cultivo de teca. *Las plantaciones de teca en América Latina: Mitos y realidades*, S. 46–52, CATIE. <http://www.ibiologia.unam.mx/gela/tecalibro.pdf>
- Murillo, O., Rojas, J. L., y Badilla, Y. (2003). *Reforestación clonal*. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.
- Murillo, O., Wright, J., Monteouis, O., y Montenegro, F. (2013). *Mejoramiento genético de la teca en América Latina*. Agritrop. <https://agritrop.cirad.fr/571671/1/tecalibro.pdf>
- Navarro González, J. E. (2019). *Micropropagación de caña de azúcar (Saccharum officinarumL.) del cultivar CCO6-791*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio UNA. <https://repositorio.una.edu.ni/3821/1/tnf02n322.pdf>
- Olmos, S., Luciani, G., Galdeano, E., Levitus, G., Echenique, V., & Rubinstein, C. (2010). Biotecnología y mejoramiento vegetal II. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Parte IV: Métodos de propagación y conservación de germoplasma. Capítulo, 1*, 353-362. <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/BiotecnologiayMejoramientovegetalII.pdf>
- Paiz Cano, E. F. (2006). *Organogénesis directa y embriogénesis indirecta en el cultivo de quequisque (Xanthosoma spp. L. Schott), cultivar Masaya* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Agraria], Repositorio Institucional UNA. <https://core.ac.uk/download/pdf/35165776.pdf>

- Quiala E. (2014). Propagación clonal de la teca (*Tectona grandis* L.) mediante cultivo in vitro. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* 4(2). <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/118/118>
- Quiala E., Cañal M., Meijón M., Rodríguez R., Chávez M., Valledor L., De Feria M. y Barbón, R. (2012). Morphological and Physiological Responses of Proliferating Shoots of Teak to Temporary Immersion and BA Treatments. *Tissue and Organ Culture*, 109, 223-234. <https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/7636/Morphological.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rivas C. (2004). *Idea de proyecto de establecimiento de plantaciones forestales comerciales en los departamentos de Chinandega y Matagalpa, Nicaragua: Informe de consultoría*. IICA. <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENK10R618.pdf>
- Rojas F., y Abdelnour A. (2012). Brotación in vitro de yemas de teca (*Tectona grandis* Lf). *Tecnología en Marcha (Costa Rica)*, 25(5), 67-72. [https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/475/403](https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/475/403)
- Ruscitti, M. (2021). *Micropropagación: Cultivo de tejidos vegetales in vitro*. [https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/98291/mod\\_resource/content/1/micropropagacion%202021.pdf](https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/98291/mod_resource/content/1/micropropagacion%202021.pdf)
- Salgado R. (2019). La propagación de plantas in vitro, un éxito biotecnológico. Saber más. <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/75-numero-10/153-la-propagacion-de-plantas-in-vitro-un-exito-biotecnologico.html>
- Santos J., Suarez I. y Gatti K. (2013). Micropropagación de *Tectona grandis* L. F. a partir de meristemos preexistentes. *Temas Agrarios* 18(2), 83 – 93. <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/download/718/834>
- Vallejo, A. y Zapata, F. (2018, septiembre 12). *Teca*. Forestal Maderero. <https://www.forestmaderero.com/articulos/item/teca.html>

## IX. ANEXO

### Anexo 1. Medio basal Murashige y Skoog (1962)

| <b>Macronutrientes</b>                               |            |
|--|------------|
| <b>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub></b>                  | 1.65 g/l   |
| <b>KNO<sub>3</sub></b>                               | 1.9 g/l    |
| <b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>              | 0.37 g/l   |
| <b>CaCl<sub>2</sub>.aq</b>                           | 0.33 g/l   |
| <b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>                  | 0.17 g/l   |
| <b>Micronutrientes</b>                               |            |
| <b>KI</b>  | 0.83 mg/l  |
| <b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>                   | 6.2 mg/l   |
| <b>MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O</b>              | 22.3 mg/l  |
| <b>ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>              | 8.6 mg/l   |
| <b>Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O</b> | 0.25 mg/l  |
| <b>CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>              | 0.025 mg/l |
| <b>CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O</b>              | 0.025 mg/l |
| <b>Na<sub>2</sub>.EDTA</b>                           | 37.3 mg/l  |
| <b>FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>              | 27.8 mg    |