

Micropropagación Clonal *In vitro* de árboles Seleccionados de *Tectona grandis* L. (Teca)

DATOS DE AUTORES:

Nombre del Investigador: Nicolás Cruz Rosero

Teléfono: cel. 593-094308053 ; 05 2771063 **E-mail:** nicolascruz83@hotmail.com

Tutor del proyecto: Ing. For. MC. Luis Ramos

Fono: 099614241 /E-mail: migluisramos@yahoo.com

RESUMEN

Los objetivos planteados en esta investigación fueron: Establecer un protocolo de propagación *in vitro* de árboles seleccionados de *T. grandis* L.

En la fase de establecimiento la mejor concentración para establecer yemas apicales de teca fué en un medio de cultivo suplementado con 0,5 mg/l de BAP, alcanzó una longitud de brotes de 1,87 cm.

En la fase de multiplicación la mejor concentración para obtener un mayor número de brotes de teca fué en un medio de cultivo suplementado con 1,0 mg/l de BAP + 0,5 mg/l de KIN, se obtuvo 1,95 número de brotes por vitroplanta.

En la fase de enraizamiento y aclimatización *ex vitro*, la mejor respuesta se presentó en el testigo (sin polvo enraizador), para las variables longitud de raíz y supervivencia con un promedio de 5,21 cm y 90 por ciento, respectivamente. Del 100 % que sobrevivió hubo un 98,75 % de plantas enraizadas.

SUMMARY

The objectives raised in this investigation were: To establish a protocol of propagation *in vitro* of selected trees of *T. grandis* L.

In the phase of establishment the best concentration to establish apical yolks of teak was in means of culture supplemented with 0.5 mg/l of BAP, was reached a length of buds of 1.87 cm.

The phase of multiplication the best concentration to obtain a greater number of teak buds was in means of culture supplemented with 1.0 mg/l of 0.5 BAP + mg/l of KIN, obtained 1.95 number of buds by vitroplanta.

In the phase of rooting and acclimatization *ex- vitro*, the best answer appeared in the witness (without enraizador dust), for the variable length by root and survival with an average of 5.21 cm and 90 percents, respectively. Of the 100 % that survived there were 98.75 % of taken root plants.

INTRODUCCIÓN

La ***Tectona grandis* L (TECA)**, es una especie tropical introducida de la India, que en el Ecuador se ha adaptado y ha adquirido una gran importancia económica y ecológica por su rápido crecimiento, buen acabado de la madera y una alta aportación de biomasa al suelo. Cualidades que han provocado que esta especie sea muy apetecible, Por ello es necesario utilizar nuevas tecnologías para propagar esta especie, una de ellas es el cultivo de tejidos.

La micropropagación *in vitro* de plantas, es una de las herramientas que, permite propagar árboles seleccionados por sus características fenotípicas como: altura, rectitud de fuste, copa y alto rendimiento de madera. Además, esta técnica permitirá incrementar la tasa de multiplicación que por la vía sexual difícilmente se pueden alcanzar. Otras de las ventajas, es que puede mantener un alto margen de sanidad y estabilidad genética del material propagado por esta vía, sin importar las condiciones ambientales y en espacios mas reducidos. Lo que trae como ventaja que se mantienen en flujo constante de material vegetativo durante todo el año, y de esta forma no se entorpecen los programas de reforestación con fines comerciales o de protección.

El principal objetivo de esta investigación fue: Establecer un protocolo para la propagación *in vitro* de árboles seleccionados de ***Tectona grandis* L.** (Teca).

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se la realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicado en los predios centrales de la Universidad, Av. Quito Km 1 ½ vía Quevedo - Santo Domingo de los Colorados.

Para establecer la metodología de micropropagación *in vitro* de la teca se utilizó yemas terminales de árboles adultos. Las que se seleccionaron, cortaron, desinfectaron y se sembraron sin ninguna labor de rejuvenecimiento contrario a lo expuesto por Ramos (2000).

Las yemas apicales fueron colocadas en agua destilada estéril con Tween 20 durante 10 minutos, luego se desinfectaron con Cobox durante 20 minutos y la última desinfección se la realizó dentro de la cámara de flujo laminar con una solución de bicloruro de mercurio al 0,2 % durante cinco minutos.

Fase de establecimiento

El objetivo en esta fase fue evaluar la mejor concentración de citoquininas a emplearse en el establecimiento *in vitro* e a teca. Para el efecto, los explantes fueron colocados en los siguientes tratamientos:

- MS (testigo)
- MS + 0,5 mg/l BAP
- MS + 1,0 mg/l BAP
- MS + 1,5 mg/l BAP

En esta investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos y ocho repeticiones. Cada frasco fue una repetición, provisto de cuatro explantes. A los 28 días se evaluó número de brotes contaminados, longitud de brotes y supervivencia.

Fase de multiplicación

Se utilizaron los brotes obtenidos de los explantes del mejor tratamiento de la fase de establecimiento. El

objetivo de esta fase fue evaluar cual es la mejor concentración de citoquininas a emplearse en la multiplicación, para lo cual las vitroplantas se colocaron en los siguientes tratamientos:

- MS + 0,5 mg/l BAP + 0,25 mg/l KIN
- MS + 1,0 mg/l BAP + 0,50 mg/l KIN
- MS + 1,5 mg/l BAP + 0,75 mg/l KIN.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos y ocho repeticiones. Cada frasco fue una repetición, provisto de cuatro explantes. A los 28 días se evaluó número de brotes, longitud de brotes y supervivencia.

Fase de enraizamiento ex vitro y aclimatización

El objetivo en esta fase fue evaluar la mejor concentración de las auxinas a emplearse en el enraizamiento ex vitro de los brotes de teca. Para el efecto, los brotes fueron colocados en los siguientes tratamientos:

- Sin polvo enraizador (testigo)
- Polvo enraizador con 500 mg/Kg ANA + 500 mg/Kg AIB
- Polvo enraizador con 1000 mg/Kg ANA + 1000 mg/Kg AIB
- Polvo enraizador con 1500 mg/Kg ANA + 1500 mg/Kg AIB

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro tratamientos 30 repeticiones para cada tratamiento. A los 35 días se evaluó el porcentaje de plantas enraizadas, número de raíces, longitud de raíz mayor y supervivencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presente investigación se la realizó en tres fases cuyos resultados se detallan a continuación:

FASE DE ESTABLECIMIENTO

En relación a la longitud de los brotes de teca, la mejor respuesta se presentó en el tratamiento MS + 0,5 mg/l BAP, con 1,87 cm. Es importante indicar que a medida que se aumentó las concentraciones de citoquininas (BAP) en el medio de cultivo, disminuyó la longitud del brote. Esto demuestra que a concentraciones altas de BAP se inhibe el crecimiento de los brotes de teca, lo que concuerda con Gupta *et al.*, (1980), quienes demostraron que con 5 mg/l de BAP en el medio de cultivo los explantes se mueren y con concentraciones bajas, en un rango de 0,1 hasta 2,0 mg/l hay una mejor respuesta al desarrollo de los brotes.

Cuadro 1. INFLUENCIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO EN EL ESTABLECIMIENTO DE YEMAS TERMINALES DE TECA. LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA, UTEQ. QUEVEDO, 2 001.

Variables	Tratamientos			
	MS	MS + 0,5 BAP	MS + 1,0 BAP	MS + 1,5 BAP
Long. de brotes (cm)	1,23 b	1,87 a	1,71 ab	1,50 ab
Supervivencia (%)	78,13 a	71,88 a	75,00 a	78,13 a

*Promedios con diferentes letras presentan diferencias estadísticas (Tukey, P < 0,05)
Concentraciones de citoquininas expresadas en miligramos por litro.*

FASE DE MULTIPLICACIÓN

El número de brotes de tecla no reportó diferencias estadísticas entre tratamientos (cuadro 2). Estos resultados concuerdan con Gupta *et al.*, (1980), los cuales utilizaron segmentos nodales de 2 a 3 mm y los sembraron en un medio MS que contenía 1,0 mg/l+0,5 mg/l KIN, cada uno de los explantes formó dos brotes. Para la longitud de brotes no reportó diferencias estadísticas pero se observó que a medida que se disminuye la concentración de citoquininas aumenta la longitud de brotes, resultados que concuerdan con Ramos (2000), quien estudió el comportamiento del número de entrenudos en los medio de cultivo con diferentes concentraciones de BAP y KIN, encontrando que el número de entrenudos aumenta a medida que disminuyeron los niveles de citoquininas

Cuadro 2. EVALUACION DE DIFERENTES NIVELES DE BAP Y KINETINA EN LA MULTIPLICACIÓN DE BROTES DE TECA. LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA, UTEQ. QUEVEDO, 2 001.

Variables	Tratamientos		
	MS + 0,5 BAP + 0.25 KIN	MS + 1,0 BAP + 0,5 KIN	MS + 1,5 BAP + 0,75 KIN
Número de brotes	1,58 a	1,95 a	1,94 a
Long. de brotes (cm)	2,00 a	1,90 a	1,80 a
Supervivencia (%)	81,25 a	71,43 a	78,13 a

Promedios con diferentes letras presentan diferencias estadísticas (Tukey, P < 0,05)

Concentraciones de citoquininas expresadas en miligramos por litro

FASE DE ENRAIZAMIENTO Y ACLIMATIZACIÓN EX VITRO

Para la variable porcentaje de plantas enraizadas ex vitro no se reportó diferencia estadísticas, debido a que hubo un comportamiento similar para los tratamientos estudiados (cuadro 3). En el número de raíces por planta no reportó diferencias significativas entre los tratamientos.

Al analizar el comportamiento de la longitud de raíz se reportó diferencia altamente significativa, siendo el mejor tratamiento el testigo (sin polvo enraizador), con una longitud de 5,21 cm. Estos resultados concuerdan con Hartmann *et al.*, (1990), quienes no utilizaron sustancias promotoras del enraizamiento y obtuvieron buenos resultados. Estos resultados fueron contrarios a los obtenidos por Ramos (2000), cuyo testigo (sin polvo enraizador) obtuvo la menor longitud de raíz.

La supervivencia presentó diferencia estadística entre los tratamientos, el testigo fue el que presentó el mejor resultado con un 90% de sobrevivencia. A medida que va en aumento la concentración de las auxinas en estudio disminuyó la supervivencia.

Cuadro 3. COMPORTAMIENTO DEL ENRAIZAMIENTO DE BROTES DE TECA BAJO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE AUXINAS. LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA, UTEQ. QUEVEDO, 2 001.

Variables	Tratamientos			
	Testigo	500 ANA + 500 AIB	1000 ANA + 1000 AIB	1500 ANA + 1500 AIB
Plantas enraizadas (%)	100 a	100 a	100 a	94 a
Número de raíces	2,59 a	2,74 a	3,06 a	2,94 a
Longitud de raíz (cm)	5,21 a	4,91 a	3,02 b	2,90 b
Supervivencia (%)	90,00 a	63,33 ab	56,67 b	56,67 b

Promedios con diferentes letras presentan diferencias estadísticas (Tukey, $P < 0,05$)

Concentraciones de auxinas expresadas en miligramos por litro

CONCLUSIONES

Se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Se logró establecer un protocolo para la micropropagación in vitro de la teca a partir de yemas apicales de árboles adultos.
2. En el establecimiento de yemas de teca la mejor respuesta se encontró en un medio de cultivo suplementado con 0,5 mg/l de BAP, donde se alcanzó una longitud de brotes de 1,87 cm.
3. Para la fase de multiplicación la mejor concentración fue un medio de cultivo suplementado con 1,0 mg/l de BAP + 0,5 mg/l de KIN, donde se obtuvo 1,95 número de brotes por vitroplanta.
4. En la fase de enraizamiento ex vitro, la mejor respuesta para el número de raíces se presentó en el tratamiento 1000 mg/Kg ANA + 1000 mg/Kg AIB, este desarrolló 3,1 número de raíces.

BIBLIOGRAFÍA

- Gupta. P. K., Nadgir A.L., Mascarenhas A.F., Jagannthan V. 1980. Tissue culture of forest trees: clonal multiplication of *Tectona grandis* L. (teak) by tissue culture. *Plant Science letters*. 17: 259-268.
- Ramos L. 2000. Algunos avances en la morfogénesis de la teca (*Tectona grandis* L.). Tesis para optar por el grado de máster en ciencias. Universidad de Ciego de Avila, Cuba. 55 pp.
- Hartmann H. T.; Kester D. E.; Davies F. T. 1990. *Plant propagation: principles and practices*. 5 ed. , Prentice Hall, Englewood cliffs, New jersey, USA. 647 p.