

## Germinación de semillas, micropropagación y conservación de germoplasma *in vitro* de *Cedrela odorata* (Meliaceae) en el norte del Perú

*In vitro* seed germination, micropropagation and germplasm conservation of *Cedrela odorata* (Meliaceae) in northern Peru

Guillermo E Delgado-Paredes <sup>a,b\*</sup>, Cecilia Vásquez-Díaz <sup>b</sup>, Boris Esquerre-Ibañez <sup>b</sup>, Felipe Zuñe-da Silva <sup>c</sup>, Pilar Bazán-Sernaqué <sup>b</sup>, Consuelo Rojas-Idrogo <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales y Recursos Genéticos, Ciudad Universitaria, Lambayeque, Perú, tel.: 51 948301087.

\* Autor de correspondencia: <sup>b</sup> Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Vicerrectorado de Investigación, Laboratorio General de Biotecnología, Lambayeque, Perú, [guidelg2015@yahoo.es](mailto:guidelg2015@yahoo.es)

<sup>c</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Rio de Janeiro, Brasil.

### SUMMARY

Indiscriminate deforestation is one of the anthropic activities that most impacts global biodiversity. Its immediate effects mainly reach vulnerable species with high commercial value, such as *Cedrela odorata*, so the development of biotechnological studies is a crucial element for the genetic conservation of its populations. In this context, this work aimed to analyze the seed germination, micropropagation, and germplasm conservation of *C. odorata* in one of the most arid regions in northern Peru. Seed germination reached 76.6 % development, with germination time between 9 and 12 days. Likewise, micropropagation produced seedlings with stem tips up to 5.4 cm in height, 12 nodes, and 83 % rooting. Finally, the conservation of germplasm resulted in individuals that reached up to 12 cm in height, 19 nodes, and presented an optimal root system. The positive results regarding seed germination, micropropagation, and germplasm conservation of *C. odorata* in northern Peru could offer new approaches to the development and genetic conservation of its populations, and provide a more efficient alternative for the management and local conservation of the species.

**Keywords:** biotechnology, genotype viability, growth regulators, seasonally dry tropical forests, Lambayeque.

### RESUMEN

La deforestación indiscriminada es una de las actividades antrópicas que más impactan la biodiversidad global. Sus efectos inmediatos alcanzan principalmente especies vulnerables y con alto valor comercial, como *Cedrela odorata*, por lo que el desarrollo de estudios biotecnológicos es un elemento crucial para la conservación genética de sus poblaciones. En ese contexto, el objetivo de este trabajo fue analizar la germinación de semillas, micropropagación y conservación de germoplasma de *C. odorata*, en una de las regiones más áridas del norte del Perú. La germinación de semillas alcanzó una eficiencia de 76,6 %, con velocidades de germinación de entre 9 y 12 días. Asimismo, en ensayos de micropropagación se obtuvieron plántulas con ápices caulinares de hasta 5,4 cm de altura, 12 nudos y 83 % de eficiencia de enraizamiento. Por último, la conservación de germoplasma resultó en individuos que, a los 30 meses de cultivo, alcanzaron hasta 12 cm de altura, 19 nudos y presentaron un óptimo sistema radicular. Este estudio sugiere que los efectos positivos sobre la germinación de semillas, micropropagación y conservación de germoplasma de *C. odorata* en el norte del Perú, podrían ofrecer nuevos enfoques sobre el desarrollo y conservación genética de sus poblaciones, funcionando incluso como una alternativa más eficiente para el manejo y conservación local de la especie.

**Palabras claves:** biotecnología, viabilidad de genotipos, reguladores de crecimiento, bosque tropical estacionalmente seco, Lambayeque.

### INTRODUCCIÓN

La deforestación es una de las mayores amenazas de la biodiversidad mundial (Barlow *et al.* 2016). Se estima que desde inicios del siglo XXI se perdieron más de 3,7 millones de kilómetros cuadrados de cobertura forestal, im-

pactando principalmente los bosques tropicales (Hansen *et al.* 2013). Como consecuencias de esta deforestación, innumerables especies forestales fueron sometidas a intensos procesos de erosión genética a través de la fragmentación de hábitat (Laurance *et al.* 2018). Debido a ello, es que en los últimos años se han ido desarrollando y perfeccionado

numerosas técnicas de biotecnología con la finalidad de mejorar el manejo y la conservación de las especies forestales más amenazadas por acciones antrópicas (Cruz-Cruz *et al.* 2013).

Entre los diferentes campos de acción de la biotecnología aplicada en plantas, las técnicas de germinación de semillas son de las más exploradas, debido a la capacidad de las semillas de desarrollarse en condiciones ambientales favorables y adversas (Rajjou *et al.* 2012). Por consiguiente, la replicación masiva de los individuos germinados no solamente es posible utilizando ápices caulinares y segmentos nodales, en un proceso conocido como micropropagación *in vitro* (Singh 2015), sino también por embriogénesis somática y organogénesis, lo que permite replicar de forma asexual características únicas de la planta madre (Pérez *et al.* 2006). Asimismo, la conservación de germoplasma *in vitro*, que es otro conjunto de técnicas de replicación masiva, es de extrema importancia tanto para resolver problemas sociales como ambientales (Engelmann 2011).

Aunque todas estas técnicas son muy eficientemente aprovechadas en diversas áreas biotecnológicas, aún es poco conocida su capacidad para explorar especies forestales vulnerables y con alto valor comercial, como *Cedrela odorata* L. (Quinto *et al.* 2009). Los primeros estudios de micropropagación de *C. odorata* se realizaron utilizando yemas apicales y segmentos nodales, aislados de plantas juveniles (plántulas) generadas a partir de semillas (Pérez *et al.* 2006). Un avance significativo fue la micropropagación de *C. odorata* a partir de explantes nodales de esquejes juveniles extraídos de árboles de campo, alcanzando 100 % de desinfección del explante y 60 % de respuesta morfogénica (García-González *et al.* 2011). Asimismo, se evaluó el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de plantas de *C. odorata* de 10 años, observándose 25 % de brotamiento (Pérez-Flores *et al.* 2012). Otros estudios relevantes sobre micropropagación de *C. odorata* fueron realizados utilizando tejidos juveniles y adultos en biorreactores BioMINT® (Peña-Ramírez *et al.* 2010) y la recuperación de árboles adultos, utilizando yemas axilares en cultivos *in vitro* (Ferreira dos Santos *et al.* 2021).

A más de dos siglos, *C. odorata* viene siendo explotada intensamente, estimándose en la actualidad que sus poblaciones hayan declinado en más de 30 % a lo largo de tres generaciones (CNCFlora 2021). Conocido vernacularmente como cedro, cedro rojo o Spanish cedar, *C. odorata* es una especie monoica, caducifolia, perteneciente a la familia Meliaceae y que se distribuye desde México hasta Argentina, con amplia distribución en los países de América Central (Gentry 1996). Valorizada por su madera de alta calidad, los individuos de *C. odorata* pueden alcanzar hasta 40 m de altura y su tronco cilíndrico hasta 2 m de ancho (Dünisch *et al.* 2003). Asimismo, se ha evaluado la utilidad de la paja de semilla de *C. odorata* (*Cedrela odorata* seed chaff) en la eliminación de tintes industriales tóxicos en ecosistemas acuáticos, así como la posibilidad

de utilizarla en diversas condiciones ambientales (Babalola *et al.* 2016).

El empleo de métodos biotecnológicos sobre *C. odorata* muestra que la germinación de semillas depende de las condiciones ambientales de los ensayos o las técnicas aplicadas (Mendizábal-Hernández *et al.* 2016). La temperatura y la luminosidad son las variables que más influyen en su proceso de germinación, tanto *in vitro* cuanto *ex vitro* (Torres-Torres *et al.* 2018). Por otro lado, aunque también en la micropropagación y conservación de germoplasma la temperatura y la luminosidad sean factores contribuyentes, el principal determinante sobre el éxito de los ensayos en *C. odorata* radica en el tipo de explante colocado en el medio de cultivo, donde en algunos casos los segmentos nodales de esquejes juveniles tendrían una mayor posibilidad de germinación que las yemas apicales (García-González *et al.* 2011). En el Perú, estudios direccionados a optimizar la germinación de semillas *in vitro* demostraron grandes porcentajes de germinación y enraizamiento (Huamán *et al.* 2012). Sin embargo, la poca información existente podría ser insuficiente para establecer un protocolo de germinación, micropropagación y conservación de germoplasma (Delgado-Paredes *et al.* 2021). Principalmente si se propende la adaptabilidad en campo de *C. odorata*, ya que el Perú es un país con una gran diversidad de hábitats y ecosistemas, siendo uno de estos el bosque tropical estacionalmente seco del norte del Perú, una de las ecorregiones más áridas de la biosfera (Linares-Palomino 2006).

Teniendo en cuenta que i) las diferencias en las respuestas de *C. odorata* sobre determinadas condiciones de germinación podrían servir de base para nuevos ensayos y, ii) que existe poca información biotecnológica sobre esta especie en el Perú, en este estudio, se determinó como objetivo evaluar la germinación de semillas, micropropagación y conservación de germoplasma *in vitro* de *C. odorata* en el norte del país.

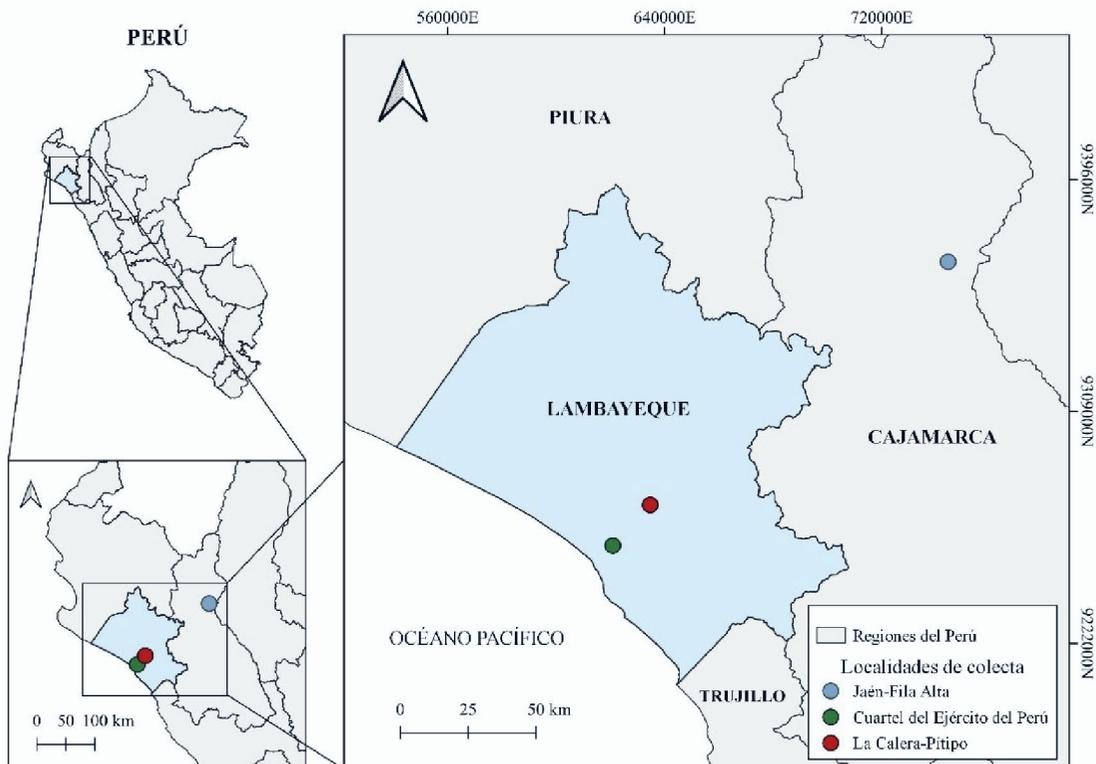
## MÉTODOS

*Área de estudio y colecta de datos.* Este estudio fue conducido en las instalaciones del Laboratorio General de Biotecnología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (LGB/UNPRG), donde se aplicaron distintas técnicas biotecnológicas del cultivo *in vitro*. El área de estudio correspondió a tres localidades del bosque tropical estacionalmente seco del norte del Perú: La Calera - Pítipo, Cuartel del Ejército del Perú (Séptima Brigada de Infantería) y Jaén - Fila Alta, donde fueron recolectados los frutos de *C. odorata* (figura 1). La Calera es una zona rural ubicada en el distrito de Pítipo, provincia de Ferreñafe y departamento de Lambayeque, en las coordenadas 6° 29' 20,9" S, 79° 39' 38,7" O y 100 m s.n.m. En esta área de estudio se contaron 20 individuos o procedencias de *C. odorata* con características morfológicas similares lo que indicaba que fueron sembrados en la misma época. La unidad de cobertura vegetal es Agricultura Costera y Andina (Agri)

(MINAM 2015). Las especies silvestres vecinas fueron *Neltuma limensis* (Benth.) C.E. Hughes & G.P. Lewis (algarrobo), *Vachellia macracantha* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Seigler & Ebinger (faique) y *Muntingia calabura* L. (cercillo) y las cultivadas *Manihot esculenta* Crantz (yuca), *Passiflora quadrangularis* L. (tumbo) e *Inga feuillei* DC. (guaba). La temperatura y precipitación promedio anual fue de 23,7 °C y 46,9 mm, respectivamente. La fecha de la primera recolecta de semillas fue el 01 de octubre de 2018, realizándose desde entonces recolectas anuales hasta la actualidad. El Cuartel del Ejército del Perú se ubica en la zona urbana del distrito, provincia y departamento de Lambayeque, en las coordenadas 6° 42' 7,3" S, 79° 54' 34,9" O y 15 m s.n.m. La unidad de cobertura vegetal es Área Urbana (U) (MINAM 2015). Las especies cultivadas vecinas fueron *I. feuillei*, *Schinus molle* L. (molle), *Carica papaya* L. (papayo) y *Ficus benjamina* L. La temperatura y precipitación promedio anual fue de 22,2 °C y 46,9 mm, respectivamente. La fecha de recolecta de semillas fue el 05 de febrero de 2021. Jaén - Fila Alta se ubica en la zona rural del distrito y provincia de Jaén y departamento de Cajamarca, en las coordenadas 5° 43' 46,4" S, 78° 47' 44,5" O y 770 m s.n.m. La unidad de cobertura vegetal es Área de no bosque amazónico (Ano-ba) con predominio de matorrales (vegetación secundaria) (MINAM 2015). Las especies silvestres vecinas fueron *Neltuma pallida* (Humb. &

Bonpl. ex Willd.) C.E. Hughes & G.P. Lewis (algarrobo), *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.) Hawkins (palo verde) y *Vachellia macracantha* y las cultivadas *Musa x paradisiaca* L. (plátano) y *Ananas comosus* (L.) Merr. (piña). La temperatura y precipitación promedio anual 25,5 °C y 60,8 mm, respectivamente. La fecha de recolecta de semillas fue el 10 de agosto de 2020. La información sobre temperatura y precipitación corresponden a la media anual entre los años 2018-2020 (SENAMHI 2020). Resulta importante precisar que las semillas de *C. odorata* recolectadas anualmente en las localidades indicadas, desde 2018, fueron también utilizadas en la producción de plántones con fines de reforestación como parte de la responsabilidad social de la institución.

Los árboles donde se recolectaron las semillas, dependiendo de la localidad de recolecta, presentaban características morfológicas diferentes, pero todos se encontraban en óptimas condiciones fisiológicas y fitosanitarias, recolectándose entre 300 a 500 frutos por procedencia de recolecta. En La Calera - Pítipo las semillas recolectadas correspondieron a 17 procedencias: Las semillas de dos procedencias, La Calera - Pítipo 1 (B) y La Calera - Pítipo 2 (C) (figura 2 A), fueron utilizadas para germinación de semillas; las semillas de cinco procedencias para evaluar la germinación de semillas entre 1 a 12 meses; las semillas de nueve procedencias para micropropagación y las



**Figura 1.** Lugares de colecta de cedro (*Cedrela odorata*) en las regiones de Lambayeque y Cajamarca (Perú).

Collection sites of cedar (*Cedrela odorata*) in the regions of Lambayeque and Cajamarca (Peru).

semillas de una sola procedencia para conservación de germoplasma *in vitro*. Estos individuos tenían una edad aproximada de 11 años, altura media de 9 m, diámetro medio de 23 cm, frutos en dehiscencia parcial y distanciados por 4 metros entre sí. En el Cuartel del Ejército del Perú, las semillas se recolectaron de frutos maduros cerrados, pertenecientes a un único individuo con más de 30 años, 20 m de altura y 54,7 cm de diámetro. Las semillas de esta localidad fueron utilizadas únicamente para los ensayos sobre germinación de semillas. Asimismo, en la localidad de Jaén - Fila Alta las semillas también se recolectaron de frutos maduros cerrados, pertenecientes a un único individuo de aproximadamente 15 años, 12 m de altura y 30 cm de diámetro. Las semillas de esta localidad fueron también utilizadas únicamente para los ensayos sobre germinación de semillas.

En todas las localidades de recolecta los frutos fueron empacados en bolsas de papel y luego trasladadas al LGB/UNPRG hasta la dehiscencia total. Luego las semillas fueron examinadas al estéreo-microscopio y seleccionadas las que presentaban las mejores características morfológicas y fisiológicas. En ningún caso se recolectó semillas del suelo.

**Germinación de semillas.** En el LGB/UNPRG, inicialmente, frutos y semillas se almacenaron durante 1 a 12 meses a temperatura ambiente (figuras 2 B y 2 C). Antes de la realización de los experimentos, las semillas fueron desinfectadas con Benlate 0,2 % durante 30 minutos y recibieron tratamiento de pre-germinación con inmersión en agua a temperatura ambiente durante 24 horas antes de sembrar en sustrato de arena y tierra de cultivo esterilizada (1:2), en condiciones de invernadero. Posteriormente, se realizaron dos experimentos: 1. Evaluación del porcentaje de germinación de cuatro procedencias de semillas de *C. odorata*, recolectadas en Jaén - Fila Alta (A) en agosto de 2020, dos procedencias recolectadas en La Calera - Pítipo 1 y 2 (B y C), en noviembre 2020 y enero 2021 (diferencia de dos meses), respectivamente y una procedencia recolectada en un Cuartel del Ejército del Perú (D), en febrero de 2021. 2. Evaluación de la viabilidad de semillas recolectadas de cinco procedencias de La Calera - Pítipo, luego de 1, 3, 6, 9 y 12 meses de conservación. Las evaluaciones se realizaron cada cinco días durante 30 días. Para los experimentos se utilizaron bandejas de plástico de 50 x 20 x 10 cm y para mantener la humedad constante y uniforme, los riegos se realizaron cada tres días por la mañana.



**Figura 2.** *Cedrela odorata*. A) Planta de 12 años en La Calera - Pítipo (Lambayeque). B) Frutos en dehiscencia. C) Semillas.  
*Cedrela odorata*. A) 12-year-old plant in La Calera - Pítipo (Lambayeque). B) Fruits in dehiscence. C) Seeds.

Las semillas del experimento 1 se sembraron y evaluaron en marzo de 2021, después de transcurrido 20 días, a razón de 80, 250, 256 y 256 semillas de las procedencias A, B, C y D, respectivamente. Las semillas del experimento 2, de 5 procedencias, se recolectaron en La Calera – Pítipo en noviembre 2018 evaluándose a lo largo de un año, después de 1, 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento, a razón de 128 semillas por procedencia y tiempo de evaluación.

En las localidades de recolecta de semillas, cada procedencia recibió diferentes volúmenes de agua, sea de lluvia o por riegos. La procedencia A recibió agua de lluvia (60,8 mm año<sup>-1</sup>), que corresponde a la localidad de Jaén - Fila Alta. La procedencia B recibió solamente agua de lluvia (46,9 mm año<sup>-1</sup>), que corresponde a la localidad de La Calera - Pítipo. La procedencia C recibió agua de lluvia (46,9 mm año<sup>-1</sup>), que corresponde a la localidad de La Calera - Pítipo, más agua de regadío durante 24 horas cada cuatro meses y la procedencia D recibió agua de lluvia (46,9 mm año<sup>-1</sup>), que corresponde a la localidad de Lambayeque, más agua potable durante 24 horas cada dos meses.

Las semillas utilizadas en los ensayos sobre germinación, después de 1, 3, 6, 9 y 12 meses de recolectadas, procedieron de individuos que se encontraban en la misma condición hídrica del individuo de procedencia C de La Calera - Pítipo.

*Micropropagación y conservación de germoplasma.* Para la micropropagación fueron seleccionadas semillas colectadas en La Calera - Pítipo que presentaban las mejores condiciones morfológicas, fisiológicas y fitosanitarias. Las semillas se desinfectaron con alcohol etílico 70 % durante un minuto y luego con NaOCl 5 % de cloro activo en agua (1:3) durante cinco minutos. Los desinfectantes se eliminaron con tres enjuagues con agua destilada esterilizada. Para la micropropagación, se utilizaron 30 semillas por procedencia. El total fue de 270 semillas derivadas de 9 procedencias. De cada procedencia se seleccionaron 25 plántulas y luego de 45 días de la germinación, después de remover los cotiledones, se cultivaron los ápices caulinares, de 1,5 a 2 cm de altura. Las evaluaciones se realizaron después de seis meses y el experimento se repitió dos veces.

Para la conservación de germoplasma también se cultivaron 25 ápices caulinares de 1,5 a 2 cm de altura, provenientes únicamente de semillas recolectadas de una sola procedencia de la Calera - Pítipo. Las evaluaciones se realizaron después de 6, 12, 15, 18 y 30 meses y el experimento se repitió dos veces. En ambos casos se utilizaron ápices caulinares de altura similar con la finalidad de uniformizar el tipo y tamaño de los explantes.

El medio de cultivo basal, utilizado en todas las etapas del cultivo *in vitro*, consistió de las sales minerales MS (Murashige y Skoog 1962) suplementadas con tiamina. HCl 1,0 mg L<sup>-1</sup>, mio-inositol 100 mg L<sup>-1</sup> y sacarosa 2 %. Este medio de cultivo fue utilizado en la germinación de semillas, micropropagación y conservación de germoplasma. El medio de cultivo de germinación de semillas no

incorporó reguladores de crecimiento. El medio de cultivo de micropropagación y conservación de germoplasma se complementó con ácido indol acético (AIA) 0,02 mg L<sup>-1</sup> y ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) 0,02 mg L<sup>-1</sup>. El pH se ajustó a 5,8 ± 0,1 con HCl y NaOH. Todos los medios de cultivo se solidificaron con agar-agar 0,7 %, se sirvieron en tubos de ensayo de 25 x 150 mm y esterilizaron en autoclave. Las condiciones ambientales en la sala de cultivo fueron las siguientes: temperatura de 26 ± 2 °C, humedad relativa 90 %, fotoperiodo de 16 / 8 horas e irradiancia de lámparas fluorescentes blancas frías de 32 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> en micropropagación y 16 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> en germinación de semillas y conservación de germoplasma.

Después de evaluadas, en los procesos de micropropagación y conservación de germoplasma, con la finalidad de estimar de manera preliminar la tasa de multiplicación, enraizamiento y supervivencia *in vitro*, en uno o más subcultivos, las plántulas fueron micropropagadas mediante el cultivo de ápices caulinares y segmentos nodales de 1,0 a 2,0 cm de largo con 1 a 3 yemas axilares, en medio de cultivo de la misma formulación.

*Análisis de datos.* Para determinar el porcentaje de germinación de semillas se utilizó la fórmula:

$$GP = \frac{SG}{TC} \times 100 \quad [1]$$

donde GP = porcentaje de germinación, SG = semillas germinadas y TS = total semillas.

Para determinar el valor de germinación -que mide la calidad de la germinación- se utilizó la fórmula:

$$VG = \frac{GMD}{N} \times \frac{A}{21} \times C2 \quad (Czabator 1962) \quad [2]$$

donde VG = valor de germinación, GMD = germinación media diaria acumulada en cada conteo, N = número de conteos diarios, A = germinación acumulada en cada conteo, 21 = días de evaluación, C2 constante de transformación porcentual (100 / N° de semillas sembradas).

Para calcular la velocidad de germinación se utilizó la fórmula:

$$M = \sum \frac{ni}{t} \quad [3]$$

donde M = velocidad de germinación, ni = número de semillas germinadas el día i, t = tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla. Los límites de la sumatoria se establecieron entre 0 a 20.

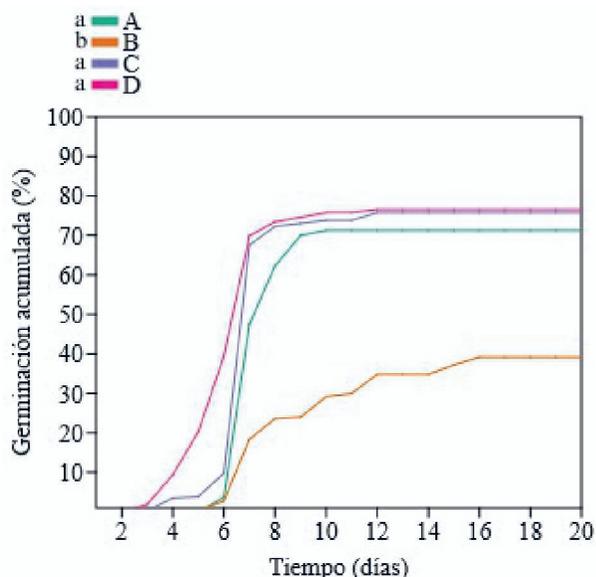
Para comparar las procedencias de *C. odorata* y localidades según la germinación y/o respuestas morfogénicas

de las plantas, se realizó análisis de varianza (ANOVA) con pruebas HSD de Tukey ( $P < 0,05$ ). Todos los análisis estadísticos se realizaron en el programa R 4.0.7 (R Core Team 2021)

## RESULTADOS

**Germinación de semillas.** El porcentaje de semillas entre no germinadas y contaminadas fue menor de 5 %. Las semillas de procedencia del Cuartel del Ejército del Perú (D) alcanzó el mayor porcentaje de germinación (76,6 %), seguido de las semillas de procedencia de La Calera - Pítipo 2 (C) (75,8 %) y las semillas de procedencia de Jaén - Fila Alta (A) (71,3 %) Las semillas de procedencia de La Calera - Pítipo 1 (B) alcanzó apenas 39,2 % de germinación, diferenciándose significativamente de las demás localidades (figura 3).

Los valores mínimo y máximo de velocidad de germinación fueron de 9 y 12 días, los que correspondieron a las procedencias La Calera - Pítipo 1 (B) y La Calera - Pítipo 2 (C), respectivamente, resultando igual en las procedencias Jaén - Fila Alta (A) y Cuartel del Ejército del Perú (D) con un valor de 10 días. El valor de germinación fue similar entre las procedencias B, C y D con 0,11, 0,13 y 0,14, res-



**Figura 3.** Germinación acumulada (%) de semillas de cuatro procedencias de *C. odorata*, a los 20 días de evaluación. A = Jaén - Fila Alta, B = La Calera - Pítipo 1, C = La Calera - Pítipo 2, D = Cuartel del Ejército del Perú (Séptima Brigada de Infantería). Para cada parámetro letras minúsculas diferentes en las líneas indican diferencias significativas según la prueba HSD de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Cumulative germination (%) of *C. odorata* seeds, at 20 days of evaluation. A = Jaén - Fila Alta, B = La Calera - Pítipo 1, C = La Calera - Pítipo 2, D = Cuartel del Ejército del Perú. Different lowercase letters between lines indicate significant differences according to Tukey's HSD test ( $P < 0.05$ ).

pectivamente, con una amplia diferencia en relación a la procedencia A que registró un valor de 0,04 (cuadro 1). Plántulas de semillas germinadas y plantones de dos meses de edad, obtenidas de estos experimentos, se muestran en las figuras 4 A y 4 B, respectivamente.

Las evaluaciones sobre la viabilidad de la semilla en cinco procedencias de *C. odorata* recolectadas en La Calera - Pítipo, mostró que la viabilidad de la semilla disminuyó progresivamente a medida que aumentaba el tiempo de almacenamiento. Después de un mes de colectadas, la tasa de germinación fue de 85,9 %, sin variación significativa entre las dos únicas procedencias evaluadas. Después de 3 meses de colectadas, la tasa de germinación fue 67 % con variaciones significativas entre procedencias y después de 6 y 9 meses de colectadas, la tasa de germinación fue 41,9 % y 25,8 %, respectivamente, con variaciones significativas entre procedencias. En la evaluación de semillas, luego de 12 meses de colectadas, no se observó germinación (cuadro 2).

**Micropropagación.** Las procedencias 3, 6 y 9 alcanzaron mayor altura de plántula con 5,4, 3,6 y 3,9 cm, respectivamente. Las plántulas con sistema radicular  $\geq 80$  % alcanzaron una mejor respuesta morfogénica, evidenciada en mayor altura de plántula y número de nudos y hojas formadas, mientras que las plántulas menores de 2,0 cm de altura, que correspondían a las procedencias 4, 7 y 8, mostraron sistema radicular menor a 20 % así como un menor número de nudos y hojas formadas. Solo el 50 % de la procedencia 3 mostró plántulas con brotes secundarios, pero siempre no más de un brote por explante (cuadro 3, figura 5 A).

Después de transcurrido seis meses de cultivo y realizadas las evaluaciones correspondientes, la micropropagación de segmentos nodales, de 1,0 a 1,5 cm de longitud, con 1 - 2 nudos, mostró una tasa de viabilidad y supervivencia *in vitro* entre 80 a 100 %, sin observarse diferencias en la tasa de propagación entre los segmentos nodales de posición basal, media y apical (datos no mostrados en cuadro 3), tal como se observa en tubos de ensayo de 25 x 150 mm (figura 6A).

**Conservación de germoplasma.** En 6 meses de conservación las plántulas alcanzaron 2,8 cm de altura, 7,6 nudos y un sistema radicular con 1 - 3 raíces, mientras que en 30 meses de conservación las plántulas alcanzaron 12 cm de altura, se formaron 19 nudos y un sistema de raíces con más de 5 raíces. En ambos casos las plántulas mostraron un estado fisiológico óptimo, aunque en 30 meses de conservación las plántulas mostraron una fuerte defoliación (cuadro 4, figura 5 B).

Observaciones preliminares sobre la micropropagación de segmentos nodales, de 1,5 a 2,0 cm de longitud, con 2 - 3 nudos, en plántulas con 30 meses de conservación, mostró una tasa de viabilidad y supervivencia *in vitro* entre 50 a 70 %, observándose que la menor tasa de mi-

**Cuadro 1.** Indicadores de germinación de semillas de cuatro procedencias de *C. odorata*, después de 21 días de evaluación. A = Jaén - Fila Alta; B = La Calera - Pítipo 1; C = La Calera - Pítipo 2; D = Cuartel del Ejército del Perú.

Seed germination indicators of four families of *C. odorata*, after 20 days of evaluation. A = Jaén - Fila Alta; B = La Calera - Pítipo 1; C = La Calera - Pítipo 2; D = Cuartel del Ejército del Perú.

Indicadores de germinación	Procedencias			
	A	B	C	D
Valor de germinación	0,04	0,11	0,13	0,14
Velocidad de germinación (días)	10	9	12	10
Porcentaje de germinación	71,3	39,2	75,8	76,6

Recolección de semillas: A. Agosto 2020, B. Noviembre 2020, C. Enero 2021, D. Febrero 2021.

Semillas sembradas (N°)/germinadas (%): A. 80/57, B. 250/98, C. 256/194, D. 256/196.

Fecha de evaluación: Marzo 2021.

Con excepción de la procedencia La Calera - Pítipo 1 (B), que recibió la menor cantidad de agua, las otras procedencias recibieron tanto agua de lluvia como de regadío.



**Figura 4.** *Cedrela odorata*. A) Germinación de semillas. B) Plántulas de dos meses de edad.

*Cedrela odorata*. A) Seed germination. B) Two-month-old seedlings.

**Cuadro 2.** Porcentaje de germinación de semillas, después de 1, 3, 6, 9 y 12 meses de la colecta, en cinco procedencias de *C. odorata*, en La Calera - Pítipo. Para cada parámetro letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba HSD de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Seed germination 1, 3, 6, 9, and 12 months after collection of five families of *C. odorata*, in La Calera - Pítipo. Different lowercase letters between lines indicate significant differences according to Tukey's HSD test ( $P < 0.05$ ).

Procedencias (N°)	Meses de almacenamiento				
	1	3	6	9	12
1	87,5 <sup>a</sup>	87,5 <sup>a</sup>	54,7 <sup>a</sup>	32,0 <sup>a</sup>	0,0
2	84,4 <sup>a</sup>	71,1 <sup>b</sup>	51,6 <sup>a</sup>	27,3 <sup>b</sup>	0,0
3	-	64,0 <sup>c</sup>	41,4 <sup>b</sup>	27,3 <sup>b</sup>	0,0
4	-	62,5 <sup>c</sup>	38,3 <sup>b</sup>	22,7 <sup>c</sup>	0,0
5	-	50,0 <sup>d</sup>	23,4 <sup>c</sup>	19,5 <sup>c</sup>	0,0
Promedio	85,9	67,0	41,9	25,8	0,0

Fecha de colecta de semillas: Noviembre 2018.

Número total de semillas evaluadas/procedencia/tiempo: 128.

cropropagación ocurría en los segmentos nodales basales (datos no mostrados en cuadro 4), tal como se observa en frascos de vidrio (figura 6 B) y mostrando el desarrollo del sistema radicular que facilite su liberación a condiciones de invernadero (figura 6 C).

## DISCUSIÓN

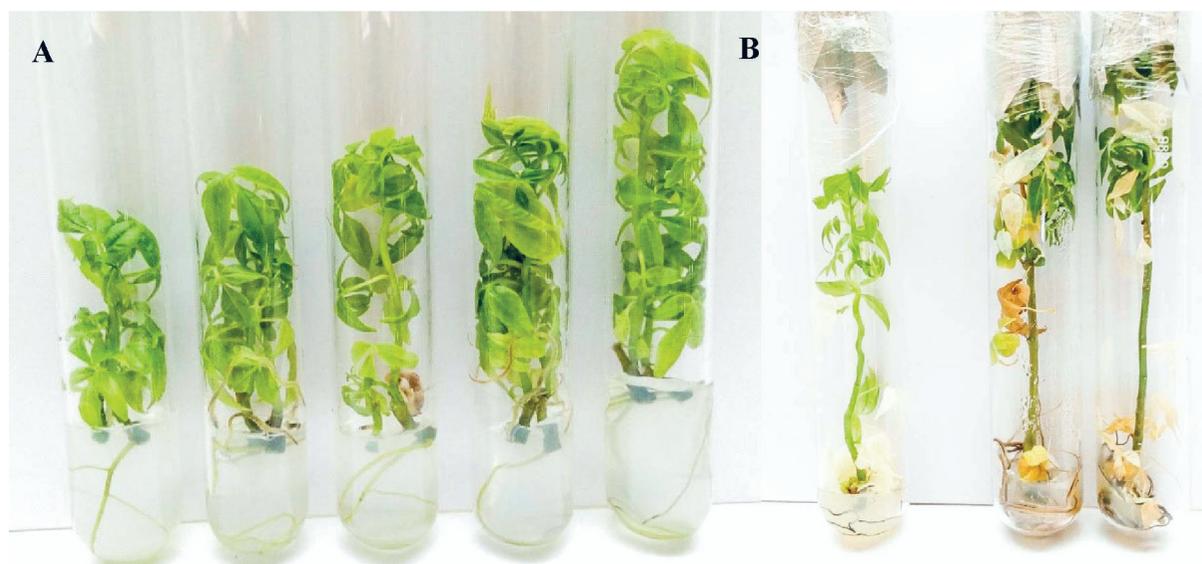
Evaluar el desarrollo de una especie vegetal bajo distintos enfoques de la biotecnología aplicada nos permite acercarnos a una mayor comprensión sobre el comporta-

**Cuadro 3.** Respuesta morfológica en la micropropagación de plántulas de *C. odorata*, de nueve procedencias de La Calera - Pítipo, en medio de cultivo MS suplementado con AIA 0,02 mg L<sup>-1</sup> y AG<sub>3</sub> 0,02 mg L<sup>-1</sup>, después de seis meses de cultivo. Para cada parámetro letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba HSD de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Morphogenic response to the micropropagation of *C. odorata* seedlings in MS culture medium supplemented with IAA 0.02 mg L<sup>-1</sup> and GA<sub>3</sub> 0.02 mg L<sup>-1</sup>, after six months of culture. Different lowercase letters between lines indicate significant differences according to Tukey's HSD test ( $P < 0.05$ ).

Procedencias (Nº)	Respuesta morfológica				
	Altura (cm)	Brotos (%)	Nudos (Nº)	Hojas (Nº)	Raíces (%)
1	2,3±0,3 <sup>c</sup>	0,0	5,7±0,4 <sup>de</sup>	5,2±0,3 <sup>d</sup>	60,0 <sup>c</sup>
2	3,4±0,4 <sup>b</sup>	0,0	8,8±0,2 <sup>c</sup>	4,8±0,4 <sup>d</sup>	33,3 <sup>d</sup>
3	5,4±0,3 <sup>a</sup>	50,0	12,0±0,2 <sup>a</sup>	8,3±0,2 <sup>a</sup>	83,0 <sup>b</sup>
4	1,8±0,1 <sup>d</sup>	0,0	6,2±0,3 <sup>d</sup>	1,5±0,7 <sup>d</sup>	13,3 <sup>e</sup>
5	2,6±0,2 <sup>c</sup>	0,0	5,6±0,4 <sup>de</sup>	7,6±0,3 <sup>b</sup>	40,0 <sup>d</sup>
6	3,6±0,3 <sup>b</sup>	0,0	10,8±0,2 <sup>b</sup>	8,3±0,2 <sup>a</sup>	80,0 <sup>b</sup>
7	1,2±0,1 <sup>e</sup>	0,0	5,1±0,3 <sup>c</sup>	2,7±0,8 <sup>ed</sup>	11,1 <sup>e</sup>
8	1,3±0,2 <sup>e</sup>	0,0	5,3±0,2 <sup>c</sup>	3,5±1,3 <sup>c</sup>	15,4 <sup>e</sup>
9	3,9±0,5 <sup>b</sup>	0,0	9,3±0,4 <sup>c</sup>	6,0±0,8 <sup>c</sup>	100,0 <sup>a</sup>

Los datos fueron registrados 6 meses después del establecimiento del ápice caulinar.  
 Los valores corresponden a la media ± = desviación estándar.



**Figura 5.** Plántulas *in vitro* de *C. odorata*. A) Micropropagación en diferentes estadios de crecimiento a lo largo de un año: 4, 6, 8, 10 y 12 meses. B) Conservación de germoplasma después de 30 meses, donde el medio de cultivo está prácticamente consumido.

*In vitro* seedlings of *C. odorata*. A) Micropropagation at different growth stages during one year: 4, 6, 8, 10 and 12 months. B) Germplasm conservation after 30 months, where the culture medium is practically consumed.

**Cuadro 4.** Respuesta morfológica en la conservación de germoplasma *in vitro* de una procedencia de La Calera - Pítipo de *C. odorata* en medio de cultivo MS suplementado con AIA 0,02 mg L<sup>-1</sup> y AG<sub>3</sub> 0,02 mg L<sup>-1</sup>, después de 6, 12, 15, 18 y 30 meses de cultivo. Para cada parámetro letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba HSD de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Morphogenic response to the conservation of germplasm *in vitro* of *C. odorata* in MS culture medium supplemented with IAA 0.02 mg L<sup>-1</sup> and GA<sub>3</sub> 0.02 mg L<sup>-1</sup>, after 6, 12, 15, 18 and 30 months cultivation.  $\pm$  = standard deviation. Different lowercase letters between lines indicate significant differences according to Tukey's HSD test ( $P < 0.05$ ).

Tiempo de conservación	Respuesta morfológica						Estado fisiológico
	Altura (cm)	Brotos (Nº)	Nudos (Nº)	Hojas (Nº)	Raíces		
					Nº	Largo (cm)	
6	2,8±0,3 <sup>d</sup>	0,1	7,6±0,4 <sup>c</sup>	5,3±0,6 <sup>d</sup>	1-3	3-5	Óptimo; sin defoliación
12	7,7±0,8 <sup>c</sup>	1,1	15±0,6 <sup>b</sup>	8,8±0,3 <sup>c</sup>	1-3	3-5	Óptimo; escasa defoliación
15	10,8±1,2 <sup>b</sup>	1,1	15,8±0,8 <sup>b</sup>	11,2±0,6 <sup>b</sup>	2-5	3-5	Óptimo; moderada defoliación
18	10,9±0,9 <sup>b</sup>	1,6	13,6±0,8 <sup>b</sup>	12,4±0,8 <sup>b</sup>	2-5	3-5	Óptimo; moderada defoliación
30	12,0±1,3 <sup>a</sup>	1,6	19±1,1 <sup>a</sup>	17±1,2 <sup>a</sup>	>5	6,8	Óptimo; fuerte defoliación

Los datos fueron registrados 6 meses después del establecimiento del ápice caulinar  
 Los valores corresponden a la media  $\pm$  = desviación estándar.



**Figura 6.** Plántulas *in vitro* de *C. odorata* propagadas a partir de segmentos nodales en medio de cultivo de *Piper*: A) Plántulas en tubo de ensayo. B) Plántulas en frasco de vidrio y C) Plántulas, tomadas de B, en condiciones vegetativas óptimas para su transferencia a invernadero.

*In vitro* seedlings of *C. odorata* propagated from nodal segments in *Piper*'s culture medium. A) Seedlings in test vial and C) Seedlings, taken from B, in optimal vegetative conditions for transfer to greenhouse.

miento de sus poblaciones. Por tal motivo, este estudio propuso como objetivo evaluar la germinación de semillas, micropropagación y conservación de germoplasma *in vitro* de *C. odorata* en una de las regiones más áridas del norte del Perú. En ese contexto, fue observado que las semillas de *C. odorata* demostraron altos porcentajes de germinación, alcanzándose hasta 87,5 % si eran sembradas durante el primer mes de la recolecta. Asimismo, las respuestas morfogénicas de la micropropagación y la conservación de germoplasma presentaron diferencias significativas, indicando que en el caso de la micropropagación estas diferencias obedecerían al efecto de la procedencia (genotipo) y en el caso de la conservación de germoplasma al tiempo de conservación transcurrido.

La germinación de semillas es un proceso complejo que finaliza con el desarrollo de una planta, pudiendo esta adaptarse o no al ambiente circundante (Rajjou *et al.* 2012). Por eso, pruebas germinativas son de extrema importancia para aplicaciones agrícolas y forestales. En este estudio, las mayores tasas de germinación correspondieron a procedencias cuyas semillas se sembraron uno o dos meses después de la recolecta y los árboles recibieron riegos frecuentes, lo que ocurrió con las procedencias de El Cuartel del Ejército del Perú (D) y La Calera - Pítipo 2 (C). Un porcentaje similar correspondió a la procedencia Jaén - Fila Alta (A) cuyas semillas se sembraron siete meses después de recolectadas, pero como el árbol madre recibió agua de lluvia con frecuencia, alcanzaron una alta tasa de germinación. En contrapartida, el menor valor de germinación correspondió a la procedencia La Calera - Pítipo 1 (B) cuyo árbol madre fue sometido a fuerte estrés hídrico, a pesar que las semillas se sembraron solo cuatro meses después de la recolecta, lo que también podría deberse a algún efecto epigenético (Parejo-Farnés *et al.* 2019), entendiéndose como cambios heredables en la expresión y función génica que no suponen cambios en la secuencia de nucleótidos (Richards 2006). Estas diferencias podrían deberse al hecho de que alrededor de 75 % de las semillas no germinan en condiciones naturales (Román *et al.* 2012). Sin embargo, en algunos estudios (*i.e.* Torres-Torres *et al.* 2018), utilizando semillas colectadas dos días después de caer al suelo y bajo dos condiciones de luminosidad se registraron bajos porcentajes de germinación (entre 11,9 % y 45,2 %).

En relación a la velocidad de germinación en el presente estudio fue diferente en relación a otros estudios de germinación de *C. odorata*, donde presentaron entre 16 y 24 días de germinación (Mendizábal-Hernández *et al.* 2016, Torres-Torres *et al.* 2018). Una de las posibles causas podría deberse a los tratamientos pre-germinativos, por el cual las semillas podrían mostrar mejor comportamiento en inmersión en agua a temperatura ambiente durante 24 horas (Torres-Torres *et al.* 2018). Asimismo, en el estudio de Mendizábal-Hernández *et al.* (2016), se observó una germinación acelerada de semillas de *C. odorata* en la primera semana de evaluación, donde germinó la mitad o más

de la mitad puesto que, en 20 procedencias seleccionadas, donde se evaluaron entre 339 a 687 semillas por procedencia, la germinación de la semilla fluctuó entre 200 y 550 por procedencia, en tanto que una germinación menor se observó en la segunda semana. Esta tendencia de germinación fue similar a lo observado en el presente estudio. Sin embargo, aun cuando las pruebas de germinación convencionales en placas de Petri con doble papel de filtro y terrinas con sustrato de arena, arrojan resultados significativos resulta importante complementarlas con estudios de viabilidad embrionaria realizando la prueba de tetrazolio (Mancipe-Murillo *et al.* 2018).

Los estudios regionales sobre micropropagación en *C. odorata* son escasos y con resultados discretos. En un estudio pionero, se probaron diversas concentraciones de las citoquininas 6-bencilaminopurina (BAP), Kinetina o 6- $\gamma$ ,  $\gamma$ -dimetilalil aminopurina (2iP) en el crecimiento de los nudos cotiledonales, alcanzando el mayor número de brotes y altura de brote (1 cm) con BAP 0,5 mg L<sup>-1</sup>, aunque las altas concentraciones de todas las citoquininas probadas indujeron la formación de callos en la base de los explantes (Pérez *et al.* 2002). En un estudio complementario, se evaluó el enraizamiento *in vitro* de *C. odorata* utilizando las auxinas ácido 1-naftalenacético (ANA) (0,5 y 1 mg L<sup>-1</sup>) y ácido indolbutírico (AIB) (1 y 1,5 mg L<sup>-1</sup>) en varias combinaciones, alcanzando muy bajas tasas de enraizamiento (~ 30 %) así como bajo número y longitud de raíces (Pérez *et al.* 2006). Asimismo, un avance importante fue la micropropagación de *C. odorata* a partir de brotes juveniles en medio suplementado con BAP 2 mg L<sup>-1</sup> y ANA 3 mg L<sup>-1</sup> utilizando nudos y también se estimuló el enraizamiento en el mismo medio de micropropagación (García-González *et al.* 2011). Por otro lado, en brotes de *Cedrela fissilis* Vell., especie estrechamente relacionada con *C. odorata*, los explantes (ápices caulinares y segmentos nodales cotiledonales), obtenidos de plántulas de 60 días, enraizaron en medio de cultivo MS suplementado con BA 0,6 mg L<sup>-1</sup>, aunque el subcultivo a largo plazo afectó la competencia de enraizamiento (Oliveira *et al.* 2021). En el presente estudio, el medio de cultivo utilizado fue MS suplementado con AIA 0,02 mg L<sup>-1</sup> y AG<sub>3</sub> 0,02 mg L<sup>-1</sup>, denominado “medio de cultivo de *Piper*” puesto que es ampliamente utilizado en la micropropagación de numerosas especies del género *Piper* (familia Piperaceae), particularmente leñosas (Delgado-Paredes *et al.* 2012) y en la micropropagación de especies arbóreas del bosque tropical estacionalmente seco del norte del Perú (Delgado-Paredes *et al.* 2021). A diferencia de los medios de cultivo específicos de enraizamiento como Quorin y Lapovire (1977) y WPM (*Woody Plant Medium*) (McCown y Lloyd 1981), el medio de cultivo de *Piper* permite simultáneamente la elongación y enraizamiento de *C. odorata*. Por otro lado, este medio de cultivo no incorporó citocininas puesto que el propósito no era la inducción de múltiples brotes y su utilización en altas concentraciones puede conllevar a variación somaclonal.

En los primeros intentos de conservar el germoplasma *in vitro* de *C. odorata* se utilizó la criopreservación en nitrógeno líquido (Engelmann 2011). Asimismo, se evaluó la criopreservación de brotes y semillas de *C. odorata*, mediante técnicas de vitrificación, deshidratación y congelación rápida en nitrógeno líquido, observándose tasas de supervivencia superiores a 80 %, dependiendo del tiempo de incubación (García y Abdelnour 2013). La otra alternativa evaluada fue la conservación mediante la encapsulación de ápices caulinares de *C. odorata* en alginato de calcio y el almacenamiento a temperaturas de 12 a 25 °C donde se alcanzó un 90 % de viabilidad después de 12 meses (Maruyama *et al.* 1997). Comparado con los resultados previos, en este estudio el tiempo de almacenamiento y evaluación no superó los seis meses. Por otro lado, tanto en el proceso de micropropagación como de conservación de germoplasma las plántulas no mostraron ni oxidación ni hiperhidricidad, trastorno fisiológico reportado en numerosos estudios en cultivos *in vitro* como en *Dendrocalamus* Nees (Sandhu *et al.* 2017) y *Lycium ruthenicum* Murray (Li *et al.* 2022). Solamente las plántulas que superaron los 24 meses de conservación mostraron desde moderada a una fuerte defoliación, hábito caducifolio de esta especie en su ambiente natural.

Es evidente que aún es necesario mayores estudios biotecnológicos locales en *C. odorata*. Sin embargo, por lo presentado en este estudio, el desarrollo de nuevos procedimientos podría maximizar las posibilidades de éxito en germinación de semillas, micropropagación y conservación de germoplasma *in vitro*. Las diferencias morfológicas en altura de planta, número de nudos y hojas formadas y enraizamiento, observadas en la micropropagación entre las nueve procedencias de La Calera - Pítipo de *C. odorata*, indica la ocurrencia de diversidad genética, lo que resulta pertinente iniciar investigaciones que conlleven a la clonación *in vitro* de los genotipos con las mejores características forestales. Finalmente, programas de conservación y reforestación de áreas degradadas serán beneficiados directamente por los resultados de este estudio, al recibir los plantones resultantes de la micropropagación, lo que contribuye con la restauración de ecosistemas y mitiga los impactos del cambio climático.

## CONCLUSIONES

Las semillas de *Cedrela odorata*, almacenadas en condiciones ambientales, pierden viabilidad entre nueve y doce meses, por lo que resultaba importante desarrollar otros métodos de conservación de germoplasma como la conservación *in vitro*. Las técnicas aplicadas, tanto para la micropropagación como para la conservación de germoplasma, permitieron obtener tasas óptimas de crecimiento y conservación, en seis y treinta meses, respectivamente. Este estudio sugiere que nuevos enfoques biotecnológicos sobre *C. odorata* en el norte del Perú, podrían ofrecer nuevas alternativas, más rápidas y eficientes, para el manejo y conservación local de la especie.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo por el financiamiento de este estudio (Resolución N° 1241-2019-R).

## CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

G.E.D.P. y C.R.I. planificaron la investigación, las estrategias metodológicas y redactaron el manuscrito. G.E.D.P., C.R.I., B.E.I., and C.V.D. participaron en la colecta de semillas. B.E.I., participó en las siembras en invernadero. C.V.D. y P.B.S., participaron en el establecimiento de los cultivos *in vitro*. F.Z. da S. realizó los análisis estadísticos. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito.

## REFERENCIAS

- Babalola JO, BA Koikic, Y Eniyewuc, A Salimonuc, JO Olowoyoc, VO Oninlac, HÁ Alabic, AE Ofomajaa, MO Omorogie. 2016. Adsorption efficacy of *Cedrela odorata* seed waste for dyes: Non linear fractal kinetics and nonlinear equilibrium studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 4(3): 3527-3536. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.07.027>
- Barlow J, GD Lennox, J Ferreira, E Berenguer, AC Lees, R Mac Nally, JR Thomson, SF de Barros Ferraz, J Louzada, VHF Oliveira, L Parry, RR de Castro Solar, ICG Vieira, LEOC Aragão, RA Begotti, RF Braga, TM Cardoso, RC de Oliveira Jr, CM Souza Jr, NG Moura, SS Nunes, JV Siqueira, RPardini, JM Silveira, FZ Vaz-de-Mello, RCS Veiga, A Venturieri, TA Gardner. 2016. Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation. *Nature* 535: 144-147. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature18326>
- CNCFlora (Centro Nacional de Conservação da Flora). 2021. *Cedrela odorata* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Consultado 26 nov. 2022. Disponible en: [https://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cedrela odorata](https://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cedrela%20odorata).
- Cruz-Cruz CA, MT González-Arnao, F Engelmann. 2013. Biotechnology and conservation of plant biodiversity. *Resources* 2(2): 73-95. DOI: <https://doi.org/10.3390/resources2020073>
- Czabator FJ. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest science* 8(4): 386-396.
- Delgado-Paredes GE, MJ Kato, N Vásquez-Dueñas, J Minchala-Patiño, C Rojas-Idrogo. 2012. Cultivo de tejidos de *Piper* sp. (Piperaceae): propagación, organogénesis y conservación de germoplasma *in vitro*. *Revista Colombiana de Biotecnología* XIV(2): 49-60.
- Delgado-Paredes GE, C Vásquez-Díaz, B Esquerre-Ibañez, P Bazán-Sernaqué, C Rojas-Idrogo. 2021. *In vitro* tissue culture in plants propagation and germplasm conservation of economically important species in Peru. *Scientia Agropecuaria* 12(3): 337-349. DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.037>

- Dünisch O, VR Montóia, J Bauch. 2003. Dendroecological investigations on *Swietenia macrophylla* King and *Cedrela odorata* L. (Meliaceae) in the central Amazon. *Trees* 17: 244–250. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-002-0230-2>
- Engelmann F. 2011. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 47(1): 5-16. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9327-2>
- Ferreira dos Santos Junior C, M Dalla Costa, T Dresh Rech, P Boff, MI Carissimi Boff. 2021. Use of micropropagation in the vegetative rescue of adult trees of *Cedrela odorata* L. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 16(4): e8944, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5039/agraria.v16i4a8944>
- García-González R, M Delgado, Y González, A González, M Garriga, PDS Caligari, B Carrasco, K Quiroz. 2011. *In vitro* propagation of cedar (*Cedrela odorata* L.) from juvenile shoots. *Chilean Journal of Agriculture Research* 71(3): 376-382. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-58392011000300005>
- García T, A Abdelnour. 2013. Crioconservación de ápices y semillas de cedro (*Cedrela odorata* L.) mediante las técnicas de vitrificación y deshidratación. *Agronomía Costarricense* 37(1): 113-126. DOI: <https://doi.org/10.15517/rac.v37i1.10717>
- Gentry A. 1996. A field guide to the families and genera of woody plants of northwest South America (Colombia, Ecuador, and Peru). The University of Chicago Press, Chicago. 380 p.
- Hansen MC, PV Potapov, R Moore, M Hancher, SA Turubanova, A Tyukavina, D Thau, SV Stehman, SJ Goetz, TR Loveland, A Kommareddy, A Egorov, L Chini, CO Justice, JRG Townshend. 2013. High-Resolution Global Maps of 21st-Century Forest Cover Change. *Science* 342(6160): 850-853. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1244693>
- Huamán X, ME Ruiz-Sánchez, JC Guerrero-Abad, R Pichis-García, L García, R Solís. 2012. Propagación *in vitro* de segmentos nodales de cedro (*Cedrela odorata* L.) obtenidos a partir de semillas botánicas. *Folia Amazónica* 21(1-2): 109-114. DOI: <https://doi.org/10.24841/fa.v21i1-2.39>
- Laurance WF, JLC Camargo, PM Fearnside, TE Lovejoy, GB Williamson, RCG Mesquita, CFJ Meyer, PED Bobrowiec, SGW Laurance. 2018. An Amazonian rainforest and its fragments as a laboratory of global change. *Biological Reviews* 93(1): 223-247. DOI: <https://doi.org/10.1111/brv.12343>
- Li L, A Qinxia, W Qin-Mei, L Wen, Q, Xinyu, C Jianguo, W Yucheng, K Haifeng. 2022. The mechanism of bud dehydropyricity by the method of 'starvation drying combined with AgNO<sub>3</sub>' in *Lycium ruthenicum*. *Tree Physiology* 42(9): 1841-1857. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac047>
- Linares-Palomino R. 2006. Phytogeography and floristics of seasonally dry tropical forests in Peru. *In Neotropical savannas and seasonally dry forests*. Perú, CRC Press. 257-279 p.
- Mancipe-Murillo C, MC Calderón-Hernández, LV Pérez-Martínez. 2018. Evaluación de viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y la prueba de tetrazolio. *Caldasia* 40(2): 366-382. DOI: <https://doi.org/10.15446/caldasia.v40n2.68251>
- Maruyama E, I Kinoshita, K Ishii, K Ohba, A Saito. 1997. Germplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mart., and *Jacaranda mimosaeifolia* D. Don., by shoot tip encapsulation in calcium-alginate and storage at 12-25°C. *Plant Cell Reports* 16(6): 393-396. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01146780>
- McCown B, G Lloyd. 1981. Woody plant medium (WPM) a revised mineral formulation for micro culture of woody plant species. *HortScience* 16: 453.
- Mendizábal-Hernández LC, J Alba-landa, MC Rodríguez-Juárez, EO Ramírez-García, J Márquez, H Cruz-Jiménez. 2016. Germinación de familias selectas de *Cedrela odorata* L. *Foresta Veracruzana* 18(1): 55-62. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/497/49746888006.pdf>
- MINAM (Ministerio del Ambiente, Perú). 2015. Mapa nacional de cobertura vegetal: memoria descriptiva. Ministerio del Ambiente, Dirección General de Evaluación, Valoración y Financiamiento del Patrimonio Natural. Lima, Perú. 108 p. Disponible en: <https://www.minam.gob.pe/patrimonio-natural/wp-content/uploads/sites/6/2013/10/MAPA-NACIONAL-DE-COBERTURA-VEGETAL-FINAL.compressed.pdf>
- Murashige T, F Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum* 15(3): 473-497. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Oliveira TDR, D Balfagón, KR Sousa, VPM Aragão, LF de Oliveira, EIS Floh, V Silveira, A Gómez-Cadenas, C Santa-Catarina. 2021. Long-term subculture affects rooting competence via changes in the hormones and protein profiles in *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) shoots. *Research Square*. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-689426/v1>
- Parejo-Farnés C, A Aparicio, RG Albaladejo. 2019. Una aproximación a la ecología epigenética en plantas. *Ecosistemas* 28(1): 69-74. DOI: <https://doi.org/10.7818/ECOS.1605>
- Peña-Rodríguez YJ, J Juárez-Gómez, L Gómez-López, JL Jerónimo-Pérez, I García-Sheseña, JA González-Rodríguez, ML Robert. 2010. Multiple adventitious shoot formation in Spanish Red Cedar (*Cedrela odorata* L.) cultured in vitro using juvenile and mature tissues: an improved micropropagation protocol for a highly valuable tropical tree species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 46(2): 149-160. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9280-0>
- Pérez J, F Mesén, M Aguilar, L Hilje. 2002. Desarrollo de un método de micropropagación aplicable a genotipos selectos de *Cedrela odorata* L. Optimización de la fase de multiplicación. *Revista Forestal Centroamericana* 38: 67-71. Disponible en: [http://catalogo.infoagro.hn/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=21247&shelfbrowse\\_itemnumber=21754](http://catalogo.infoagro.hn/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=21247&shelfbrowse_itemnumber=21754)
- Pérez J, F Mesén, M Aguilar, L Hilje. 2006. Desarrollo de un método de micropropagación aplicable a genotipos selectos de *Cedrela odorata* L. Fases de desarrollo y enraizamiento. *Recursos Naturales y Ambiente* 46-47: 146-151.
- Pérez-Flores J, M Aguilar-Vega, R Roca-Tripepe. 2012. Assays for the *in vitro* establishment of *Swietenia macrophylla* and *Cedrela odorata*. *Revista Colombiana de Biotecnología* 14(1): 20-30. Consultado 20 abr. 2023. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v14n1/v14n1a03.pdf>
- Quinto L, PA Martínez-Hernández, L Pimentel-Briebesca, Rodríguez-Trejo DA. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente* 15(1): 23-28.
- Quorin M, P Lepoivre. 1977. Etudes de mileux adaptes aux cultures in vitro de prunes. *Acta Horticulturae* 78: 437-442.
- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Consultado 20 abr. 2023. Disponible en: <https://www.R-project.org>

- Rajjou L, M Duval, K Gallardo, J Catusse, J Bally, C Job, D Job. 2012. Seed germination and vigor. *Annual Review of Plant Biology* 63(1): 507-533. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>
- Richards EJ. 2006. Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics* 7: 395-401. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg1834>
- Román F, R De Liones, A Sautu, J Deago, JS Hall. 2012. Guía para la producción de 120 especies de árboles nativos de Panamá y el Neotrópico. New Haven, USA. Environmental Leadership and Training Initiative (ELTI). 162 p.
- Sandhu M, SH Wani, VM Jiménez. 2017. *In vitro* propagation of bamboo species through axillary shoot proliferation: a review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 132: 27-53. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1325-1>
- SENAMHI (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología, Perú). 2020. Datos Hidrometeorológicos, periodo 2018-2020. Dirección de Redes de Observación y Datos. Consultado el 25 oct. 2022. Disponible en <https://www.senamhi.gob.pe/?p=estaciones>
- Singh A. 2015. Micropropagation of Plants. In Bahadur B, Venkat Rajam M, Sahijram L, Krishnamurthy K eds. *Plant Biology and Biotechnology*. Springer. New Delhi, India. pp 329-346. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2283-5\\_16](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2283-5_16)
- Torres-Torres JJ, H Medina, M Martínez. 2018. Germinación y crecimiento inicial de *Cedrela odorata* L. (Sapindales: Meliaceae), empleando semillas silvestres en el departamento del Chocó, Colombia. *Revista Biodiversidad Neotropical* 8(1): 22-28. Consultado 20 abr. 2023. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7399030.pdf>

Recibido: 11.02.22  
Aceptado: 04.12.22

