



# Conservación *ex situ* mediante el establecimiento de cultivo *in vitro* de semillas de *Prosopis limensis* “Huarango” de Ica, Perú

*Ex situ* conservation through the establishment of *in vitro* cultivation of *Prosopis limensis* seeds “Huarango” from Ica, Peru

Héctor Javier Sánchez-Sotomayor<sup>1</sup>; Alfonso Orellana-García<sup>2</sup>; Indira Aurora Roel Barahona<sup>1</sup>; Manuel Marín Bravo<sup>3, \*</sup>; Gilmar Peña Rojas<sup>4</sup>; Vidalina Andia Ayme<sup>4</sup>; Rolando Víctor Estrada Jiménez<sup>1</sup>

1 Laboratorio de Recursos Genéticos y Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Ciudad universitaria, Av. German Amezaga 375, Lima, Perú.

2 Laboratorio de Florística, Departamento de Dicotiledóneas. Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

3 Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia vegetal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

4 Laboratorio de Biología Celular y Molecular. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Perú.

\* Autor correspondiente: [mmarinb@unmsm.edu.pe](mailto:mmarinb@unmsm.edu.pe) (M. Marín Bravo).

ID ORCID de los autores

H. J. Sánchez-Sotomayor: <https://orcid.org/0000-0002-3565-7171>

A. Orellana-García: <https://orcid.org/0000-0003-4021-695X>

I. A. Roel Barahona: <https://orcid.org/0000-0002-1278-4055>

M. Marín Bravo: <https://orcid.org/0000-0002-9827-0687>

G. Peña Rojas: <https://orcid.org/0000-0002-1888-4989>

V. Andia Ayme: <https://orcid.org/0000-0002-7951-3241>

R. V. Estrada Jiménez: <https://orcid.org/0000-0002-0802-2250>

## RESUMEN

El “Huarango”, *Prosopis limensis* es una especie leñosa de la familia de las fabáceas que se encuentra ubicada en el bosque seco de Ica, de importancia clave en este ecosistema y considerada por diferentes causas en estado de peligro. El cultivo *in vitro* de semillas de esta especie se presenta como una estrategia adecuada de conservación, debido a las altas tasas de multiplicación que promueve, la economía en tiempo y costos de producción y por las posibilidades a futuro de mejoramiento y reforestación. El objetivo del presente estudio es el establecimiento de una metodología efectiva para la germinación óptima de semillas almacenadas de esta especie. Las semillas fueron obtenidas de 4 accesiones experimentales representativas procedentes del departamento de Ica, que se sometieron a un procedimiento de escarificación física, las semillas fueron sumergidas en agua temperada (70 °C) y reposándolas hasta alcanzar la temperatura de 37 °C. Posteriormente a los procesos de esterilización convencionales, las semillas fueron sembradas en medio básico M&S con vitaminas tiamina HCl (1,0 mg/l) y m-inositol (100 mg/l), sacarosa 2% y agar 0,6%, e incubados a 23 °C +/- 2 horas, por un fotoperiodo de 16 horas luz. De las accesiones evaluadas a los 24 días, la CPUC-117 presentó el mayor porcentaje de germinación, superior al 90%. Los resultados del presente trabajo constituyen el precedente necesario para iniciar los ensayos a mayor escala de micropropagación *in vitro* del “Huarango” con fines de conservación.

**Palabras claves:** Conservación; *ex situ*; *in vitro*; semillas; *Prosopis limensis*; Huarango.

## ABSTRACT

The “Huarango” *Prosopis limensis* is a woody species of the Fabaceae family that is in the dry forest of Ica, of key importance in this ecosystem and considered for different reasons in a state of danger. The *in vitro* cultivation of seeds of this species is presented as an adequate conservation strategy, due to high multiplication rates it promotes, the economy in time and production costs, and the future possibilities of improvement and reforestation. The objective of this study is the establishment of an effective methodology for the optimal germination of stored seeds of this species. The seeds were obtained from 4 representative experimental accessions from the department of Ica, which were subjected to a physical scarification treatment, immersing them in hot water (70 °C) and leaving it at rest until reaching a temperature of 37 °C. After conventional sterilization processes, seeds were sown in basic M&S medium with vitamins thiamine HCl (1,0 mg/l) and m-inositol (100 mg/l), sucrose 2% and agar 0,6%, and incubated at 23 °C +/- 2 h, for a photoperiod of 16 light hours. At 24 days the CPUC-117 accession the germination percentage was in the range of close to 95%. The results of this work constitute the necessary precedent to initiate larger-scale *in vitro* micropropagation trials of “Huarango” for conservation purposes.

**Keywords:** Conservation; *ex situ*; *in vitro*; seeds; *Prosopis limensis*; Huarango.

Recibido: 12-07-2021.

Aceptado: 15-11-2021.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

## INTRODUCCIÓN

El género *Prosopis* L. (Fabaceae) presenta 47 especies que se distribuyen en la regiones áridas y semiáridas del suroeste de Asia, África y predominantemente en el Neotrópico (Burkart, 1976). Aproximadamente 43 especies que pertenecen a tres secciones (Algarobia, Strombocarpa y Monilicarpa) de las cinco secciones propuestas por Burkart (1976), habitan ecosistemas secos desde el suroeste de América hasta la Patagonia Argentina (Hunziker et al., 1975).

La costa árida del suroeste de Ecuador, Perú y Chile, tiene varios parientes estrechamente relacionadas y morfológicamente similares a especies arbóreas de *Prosopis*. A menudo se les llama localmente 'algarrobo', por las similitudes con la algarroba europea (*Ceratonia siliqua* L.), aunque ambas especies no están estrechamente relacionadas (Whaley et al., 2019). *Prosopis* en Perú se le puede denominar 'algarrobo' o 'huarango' y es un género emblemático del norte y sur peruano; en Chile, se le denomina 'algarrobo' o 'algarrobo blanco'.

En Chile, la distribución natural de *Prosopis* abarca desde el extremo Norte (17°30' LS) y aproximadamente la latitud de Santiago (30°30' LS), siendo muy discontinua, ya que las formaciones se asocian a condiciones mínimas de humedad dadas por los valles o napa freática (Barros & Wrann, 1992). En el Perú, la distribución y taxonomía del género *Prosopis* continúa incierta y es de una gran variabilidad y presenta hibridaciones (según lo revisado en la publicación de Macbride, 1946; Burkart, 1976; Ferreyra, 1987; Díaz-Celis, 1995; Pasiecznick et al., 2001; Mom et al., 2002; Burghardt et al., 2010 y Palacios et al., 2012). En cuanto a la conservación de las especies de los bosques secos, en la publicación de Patiño (1997) se establecen dos tipos de Conservación: (a) Conservación *in situ*, se aplica a las poblaciones silvestres, que se regeneran de forma natural en áreas protegidas (Palmberg, 1987); también incluye formas de inducción de la regeneración, para el caso de actividades agronómicas de plantación y de siembra, siempre y cuando no se realicen ninguna selección previa de los materiales del área donde se colectaron las semillas; (b) Conservación *ex situ*, determina que la variabilidad genérica sea protegida en determinados lugares fuera del área original de distribución de la población genitora. Existen diferentes formas en las que se puede aplicar, ya sea empleando material de tipo semillas y granos de polen, adecuadamente conservados en bancos de semillas, como también especímenes vivos, conservados en arboretos o jardines botánicos, establecidos a partir de semillas u órganos vegetativos. En estas diferentes formas de conservación, prevalece el objetivo de evitar perder la diversidad de los recursos genéticos, aplicando una cuidadosa selección, tanto de los individuos y de los órganos a reproducir, como de las áreas destinadas a su plantación, se incluye también la aplicación de técnicas agronómicas para su cultivo. Estas consideraciones son particularmente útiles para ciertas especies o géneros, en los que se requiere combinar los procedimientos y conocimientos básicos del sistema de reproducción y la biología de las especies, así como la metodología agronómica del cultivo del almacenamiento de las semillas y polen.

Las especies leñosas empleadas en plantaciones debe incluirse en esta categoría.

En los últimos años, el cambio climático, el uso indiscriminado de la tala de árboles como leña, la parcelación privada en el departamento de Ica con fines económicos, han determinado la destrucción de amplias extensiones de bosques de algarrobo (Whaley et al., 2010; 2011). Debido a ello, el MINAGRI (2006), ha declarado a *Prosopis limensis*, "huarango" como una especie amenazada. Actualmente se han implementado programas de reforestación, por medio del uso convencional de semillas, pero han resultado ser formas de propagación limitadas, debido a su manifiesta demora de crecimiento si lo comparamos con las plantas propagadas biotecnológicamente (Barbón, 2011). La micropropagación de cultivos *in vitro* resulta en la alternativa viable para aplicarlo en las plantaciones de campo y con resultados satisfactorios debido a sus altos coeficientes de multiplicación (Daquinta et al., 2000; Barbón, 2011). La micropropagación se presenta como la alternativa viable que contribuye a mantener equilibrado el medio ambiente y el ecosistema forestal debido a su aporte en la propagación de plantas y conservación de la biodiversidad genética (Farjon, 2003).

En uno de los primeros trabajos especializados, la propuesta de 2 variedades de *Prosopis juliflora* permitió ampliar el rango de distribución del género a Ecuador y Perú (Burkart, 1976). Una publicación más reciente termina describiendo las especies de *P. juliflora* y *P. pallida*, aceptando su distribución en el norte del Perú, aunque no reportaron especímenes de herbario (Díaz-Celis, 1995). Pasiecznick et al. (2001) establecieron para estas especies el complejo "*P. juliflora* - *P. pallida*", sin embargo, al igual que la publicación de Díaz-Celis (1995), no reportaron *exsiccatas* para refrendarlas. Se conoce que este complejo proviene de una identificación taxonómica errónea de material enviado desde Perú a Brasil, donde los cultivos en los que la FAO basa sus recomendaciones era *P. pallida* y no *P. juliflora* (Palacios et al., 2012; Pasiecznick et al., 2001). Mom et al. (2002) indicaron la presencia de *P. pallida* y *P. limensis* Bentham en costa septentrional del país. *Prosopis limensis* fue añadida como sinonimia de *P. pallida* por Burkart (1976), aunque Mom et al. (2002) indican que son válidas las dos determinaciones y que tienen correspondencia con las especies antes citadas a nivel de los tipos. Si bien, Landeras et al. (2006) utilizando marcadores ADN polimórficos nucleares (RAPD) presentaron diferencias substanciales existentes entre *P. pallida* y *P. juliflora*, sin embargo, continuaron reconociendo el complejo *P. juliflora* - *P. pallida* de Pasiecznick et al. (2001), adicionalmente el reporte de Palacios et al. (2012) también reporta la existencia de diferencias a nivel genético entre las accesiones consideradas como *P. pallida* y las accesiones de *P. juliflora*. Burghardt et al. (2010), define que las especies halladas en costa sudamericana de Perú y Ecuador son *Prosopis pallida*, *Prosopis limensis*, consideradas ambas de amplia distribución y *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz, sólo se halla delimitado al valle del río Camaná; no se hallan evidencias que justifiquen la presencia de *P.*

*juliflora* y *P. affinis*, por lo que sugieren que no se les consideren; además, sugieren no seguir utilizando la denominación de las variedades de *P. pallida* (Ferreira, 1987) hasta la comprobación experimental de que los caracteres que las delimitan sean producto de la variabilidad genotípica y no como respuesta a variaciones ambientales.

Los caracteres claves de campo para identificar *P. limensis* en árboles maduros, se basan en: i) tronco inclinado, sinuoso o retorcido con corteza fisurada y exfoliante que exhibe color rojo ocre superficial y subyacente; ii) desarrollo de grandes braquiblastos (ganglios leñosos) en ramas secundarias (Whaley et al., 2010; 2011; 2019).

Las semillas de Huarango pueden ser escarificadas por medio químico mediante ácido sulfúrico -  $H_2SO_4$  (Medina & Cardemil, 1993; Sánchez, 2002), o medio mecánico mediante la injuria con el uso de un agente

abrasivo o cortes en la testa; o escarificación de semillas por medio físico como es la temperatura (Minchala-Patiño et al., 2014), siendo esta última una forma de escarificación menos invasiva para el medio ambiente.

En un estudio sobre la introducción *in vitro* de semillas de *Prosopis* sp. "Algarrobo", se llegó a la conclusión que para la germinación no era necesario en el medio de cultivo la utilización de un inductor de germinación como el ácido giberélico, ya que a los 11 días posteriores a la siembra la germinación fue de un 100% (Flores et al., 2017).

El objetivo del presente trabajo fue establecer el mejor protocolo de introducción de germinación de semillas *in vitro* con el material de *Prosopis limensis* "Huarango" procedentes del departamento de Ica del Perú, con fines futuros de micropropagación y conservación de la especie.

## MATERIAL Y MÉTODOS

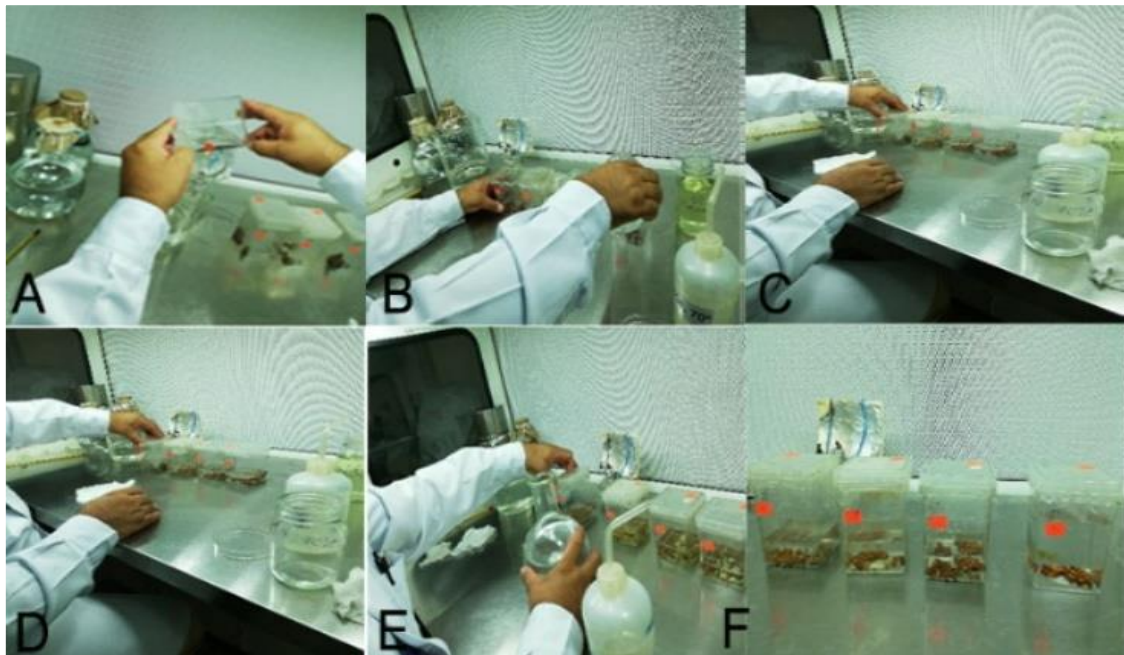
### Material Biológico

Las salidas de campo para la colecta de plantas y recolección de semillas de *Prosopis limensis* "Huarango" en la región Ica fueron realizadas entre 2011 y 2016, colectando alrededor de 20 ejemplares en nueve localidades (San Pedro, Samaca, Changuillo, Usaca, Copara, La Joya, Chauchilla, Valle los Trancas, Pozo Santo, departamento de Ica), como parte del Proyecto Huarango en Perú dirigido por el Royal Botanic Gardens, Kew y apoyado por *Sainsbury's* y *Darwin Initiative* del Reino Unido. La colección y herborización de especímenes se realizó mediante técnicas convencionales (Bridson & Forman, 2009; Cerrate, 1969), colectando 2-4 especímenes en campo/localidad según autorizaciones de Resolución Administrativa N°041-2016-SERFOR-ATFFS-ICA y Resolución de Dirección General N°473-2017-SERFOR-DGGSPFFS; todo el material botánico peruano fue depositado en el herbario USM. Las

semillas colectadas fueron conservadas en condiciones estandarizadas por el centro de conservación de plantas - CCP SAINSBURY'S-CHAPI de Santiago de Ica. En la Tabla 1, se presentan los datos pasaporte de la colecta de 500 semillas de *Prosopis limensis* "Huarango" y sus lugares de procedencia en el departamento de Ica, Perú.

### Escarificación de las semillas

Se realizó el protocolo sugerido por Minchala-Patiño et al. (2014). Se colocaron las 60 semillas de cada accesión en cajas magentas previamente marcadas como A, B, C y D en la cámara de flujo laminar. Se hirvió agua destilada y luego se graduó la temperatura a 70 °C y luego se adicionó el agua en cada caja magenta. Se empezó a observar cómo la testa empezaba a salir lentamente, periódicamente se fue tomando la temperatura hasta que llegó a 37 °C, esto fue por un tiempo de 30 minutos (Figura 1).



**Figura 1.** A-F, pasos secuenciales en la escarificación a las semillas de *Prosopis limensis* "Huarango" usando el método físico, agua a 70 °C por 30 minutos tiempo que disminuye la temperatura a 37 °C.

**Tabla 1**

Datos pasaporte de las 4 accesiones de *Prosopis limensis* de Ica, proporcionado por el personal del Centro de conservación de plantas - CCP SAINSBURY'S-CHAPI de Santiago de Ica

Accesión	Código-S	Latitud Sur	Longitud Oeste	Altitud (Msnm)	Fecha de Colecta	Localidad - Distrito
A	CPUC-117	14°58'51,00"	74°55'54,00"	563	22/02/2016	Chauchilla - Valle los Trancas
B	S-143	14°07'58,30"	75°44'39,30"	385	15/08/2011	San Pedro - Ica
C	CPUC-43	14°58'47,85"	74°54'58,49"	587	24/01/2014	La joya (Bautista) - Valle Las Trancas
D	S-120	14°05'47,15"	75°44'13,05"	394	10/03/2012	Cachiche - Ica

### Desinfección superficial

Luego de 30 minutos se retiró el agua y se le adicionó a cada caja magenta etanol 70° por 1 minuto en todo este tiempo se agitó cada caja magenta. Se retiró el etanol 70° y se le adicionó el hipoclorito de sodio al 5% a cada caja magenta por 5 minutos, constantemente se agitó manualmente cada caja magenta. Terminado el tiempo se retiró el hipoclorito de sodio al 5% y se procedió a realizar tres enjuagues con agua destilada estéril (en cada oportunidad se retiró el agua destilada) y se le adicionó por cuarta vez agua destilada estéril y se procedió a tapar las cajas magentas y se sellaron con Parafilm, todo el proceso de esterilización de las semillas culminó luego de 30 min (Figura 2). Las semillas de las cuatro accesiones permanecieron en agua destilada estéril por 24 horas y luego se sembró cada semilla en los tubos con el medio de cultivo preparado para la germinación.

### Preparación de medio de cultivo y siembra *in vitro*

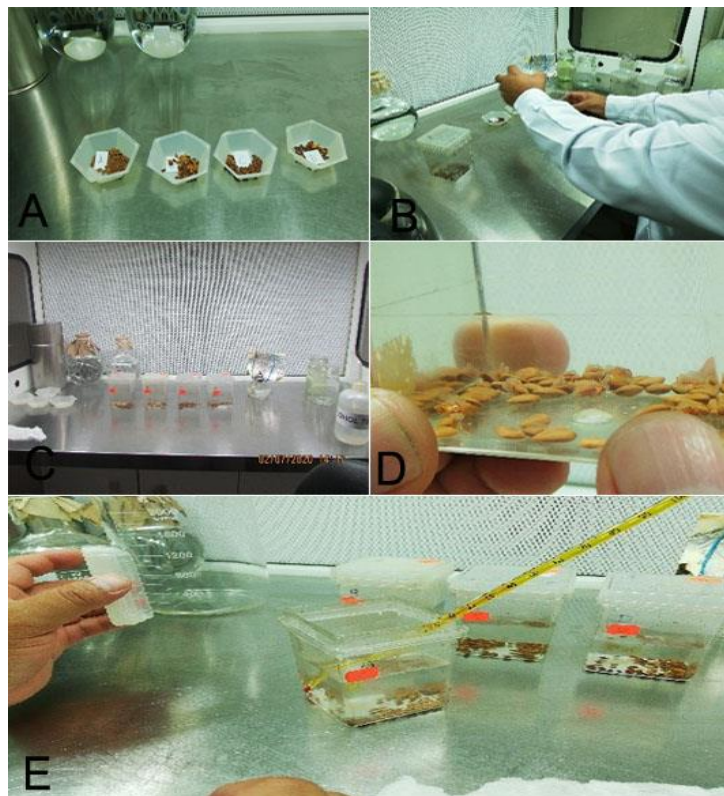
#### Medio de cultivo

Se preparó el medio de cultivo de germinación, siendo el medio básico Murashige y Skoog (MS,

1962) (4,43 g/l) (Murashige y Skoog MSP09 100 l - Caisson Laboratories, INC), suplementado con vitaminas tiamina HCl (0,1 mg/l) y mioinositol (0,02 mg/l), sucrosa (2%) (Sucrose ASC grade SC011 - Caisson Laboratories, INC), se ajustó el pH a 5,8 y agar al 0,6% (Agar powder type I - A038 - Caisson Laboratories, INC). Se repartió 2 ml de medio de cultivo a cada tubo de introducción (10x100mm) y se esterilizaron los tubos por 20 minutos a 120 °C y 15 lb de presión.

### Germinación *in vitro*

Después de las 24 h de haber embebido las semillas de las accesiones A, B, C y D, en una cámara de flujo laminar las semillas fueron colocadas en una placa Petri estéril y se procedió a introducir una semilla por cada tubo que contenía el medio de germinación. En total se sembraron 58 tubos de cada accesión. Luego se sellaron los tubos sembrados con Parafilm. Las gradillas que contienen los tubos sembrados se llevaron al cuarto de crecimiento a 23 °C y fotoperiodo de 16 ± 2 horas luz (ver Figura 3).



**Figura 2.** A-F, pasos secuenciales en la desinfección de las semillas de *Prosopis limensis* "Huarango" utilizando etanol 70°, hipoclorito de sodio 5%, enjuagues sucesivos con agua destilada.



Figura 3. A-B, Semillas de accesiones de *Prosopis limensis* "Huarango". C, sembrado *in vitro* en los tubos sembrados puestos en el cuarto de crecimiento a 23 °C y un fotoperiodo de 16 horas luz.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Escarificación y cultivo *in vitro*

En cámara de flujo laminar se procedió a revisar las semillas de las cajas magentas de las accesiones A, B, C y D, mostraron diferentes grados de turgencia o de hidratación fueron las semillas D (S-120) las más hidratadas, le siguieron las accesiones B (S-143) y C (CPUC-43) y finalmente las menos hidratadas fueron las semillas de la accesión A (CPUC-117).

### Germinación *in vitro*

En la tabla 2 se registran los porcentajes de germinación y de contaminación evaluados a partir de las 48 horas después de sembrados. Luego de las 96 horas de realizado el cultivo *in vitro* de las semillas se pudo observar que la accesión A (CPUC-117) presentó 93% de germinación, la accesión B (S-143) presentó 34,48% de germinación, C (CPUC-43) tiene 82,76% de germinación y la accesión D (S-120) tuvo una germinación de 32,76%. Finalmente, la última evaluación se realizó a las 576 horas de realizado el cultivo *in vitro* de las semillas se pudo observar que la accesión A (CPUC-117) presentó

94,83% de germinación, la accesión B (S-143) presentó 44,83% de germinación, C (CPUC-43) tuvo 79,31% de germinación y la accesión D (S-120) tuvo una germinación de 8,62%. Las accesiones A (CPUC-117) y C (CPUC-43) tuvieron un incremento significativo en la germinación, de 94,83% y 79,31%, respectivamente.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la segunda siembra, luego de las 120 horas de realizado el cultivo *in vitro* de las semillas se pudo observar que la accesión A (CPUC-117) presentó 84,75% de germinación, la accesión B (S-143) presentó 31,67% de germinación, C (CPUC-43) tuvo 78,33% de germinación y la accesión D (S-120) tuvo una germinación de 3,33%. Finalmente, la última evaluación de la segunda siembra se realizó a las 384 horas de realizado el cultivo *in vitro* de las semillas, se pudo observar que la accesión A (CPUC-117) presentó 91,53% de germinación, la accesión B (S-143) presentó 40% de germinación, C (CPUC-43) tuvo 83,33% de germinación y la accesión D (S-120) tuvo una germinación de 3,33%.

Tabla 2

Porcentajes de germinación y de contaminación de las 4 accesiones de *Prosopis limensis* de Ica - Primera siembra

Accesión		48 h - 2 días			72 h - 3 días			96 h - 4 días			576 h - 24 días		
		% de Germinación	% no Germinado	% Contaminación	% de Germinación	% no Germinado	% Contaminación	% de Germinación	% no Germinado	% Contaminación	% de Germinación	% no Germinado	% Contaminación
A	CPUC-117	91,38	8,62	0	91,38	8,62	0	93,1	6,9	0	94,83	5,17	0
B	S-143	18,96	81,04	0	29,30	70,7	0	34,48	65,52	0	44,83	55,17	1,72
C	CPUC-53	79,31	20,69	0	82,76	17,24	0	82,76	17,24	0	79,31	20,69	0
D	S-120	6,89	93,11	0	15,52	84,48	0	32,76	67,24	0	8,62	91,38	3,45

Tabla 3

Porcentajes de germinación y de contaminación de las 4 accesiones de *Prosopis limensis* de Ica - Segunda siembra

Accesión		120 h - 5 días			384 h - 16 días		
		% de Germinación	% no Germinado	% Contaminación	% de Germinación	% no Germinado	% Contaminación
A	CPUC-117	84,75	15,25	0	91,53	8,47	0
B	S-143	31,67	68,33	0	40	60	0
C	CPUC-43	78,33	21,67	0	83,33	16,67	0
D	S-120	3,33	96,67	0	3,33	96,67	0

En las accesiones A (CPUC-117) y C (CPUC-43) se observó un incremento significativo en el porcentaje de germinación de 91,53% y 83,33%, respectivamente.

Las semillas de *Prosopis limensis* se caracterizaron por ser muy duras, por lo que fue necesario realizar un tratamiento pre-germinativo de escarificación. Medina & Cardemil (1992) y Sánchez (2002) utilizaron protocolos de escarificación para *Prosopis chilensis*, tomando las semillas al azar que luego fueron escarificadas con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado por 10 minutos, seguido de una serie de enjuagues con agua destilada estéril, para ambos trabajos, una vez germinadas las semillas y obtenidas las plántulas, se sometieron ambos a un tratamiento de shock térmico de altas temperaturas para evaluar el incremento de las Proteínas de choque térmico de 70 Kda (HSP-70) y algunos parámetros fisiológicos como es la asimilación de CO<sub>2</sub>, evolución de O<sub>2</sub> y de proteínas totales. En este estudio se empleó la metodología propuesta por Flores et al. (2017) y por Minchala-Patiño et al. (2014), donde el uso de agua a 70 °C permite a los 11 días el 100% de germinación en comparación a una escarificación química, además de ser más segura, ya que con el uso del ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) existe el riesgo de un daño al embrión, por la reacción exotérmica generada al realizar el enjuague de las semillas y el consiguiente daño al desarrollo del embrión. Estos resultados están acordes con los obtenidos por

Rivera et al. (2020) para semillas de *P. pallida*. Debido a ello el porcentaje de germinación obtenido de semillas sembradas en medio MS básico con este protocolo de escarificación se alcanzaron valores altos de germinación, como los que presentan las accesiones A (CPUC-117) y la C (CPUC-43) que tuvieron 94,83% y 79,31% de germinación respectivamente. Sin embargo, las accesiones B (S-143) y D (S-120) presentaron los más bajos porcentajes de germinación y esto es podría estar en relación al tiempo de colecta y la viabilidad de las semillas, particularmente para la accesión D (S-120) se evidencia que los procesos oxidativos de las semillas almacenadas por un periodo largo de tiempo terminan por afectar la eficiencia en la germinación. Están en progreso ensayos en las que se disminuye el tiempo de exposición al uso del agua a 70 °C. Otras metodologías propuestas incluyen la escarificación física, por medio de agua hervida en 30 minutos, dejándolas embebidas en agua hasta el día siguiente o sembrándolas directamente en bolsas con una mezcla de arena fina y tierra de cultivo, alcanzándose un porcentaje de éxito del 60%. Actualmente se conoce que las semillas de Huarango que no logran germinar en ambiente pueden ser todavía rescatadas *in vitro* (comunicación personal del Centro de Conservación de Plantas - CCP SAINSBURY'S-CHAPI de Santiago de Ica).

## CONCLUSIONES

La accesión A (CPUC-117) de *Prosopis limensis*, es la que muestra el mejor porcentaje de germinación comparado con otras accesiones de la especie. Esta eficiencia de la germinación está relacionada con los periodos relativamente cortos de almacenamiento de las semillas conservadas. Además, este

hallazgo demuestra la ventaja y eficiencia que representan el empleo de los procedimientos de germinación *in vitro* frente a los métodos convencionales de propagación agronómica. Este resultado pone en práctica la fase de ensayos para la micropropagación *in vitro* del Huarango.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en el ámbito de los estudios de posgrado de la maestría de Biodiversidad y gestión de ecosistemas, Unidad de posgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los autores desean agradecer a Indira Nadeira Sánchez

Roel e Illary Arantza Sánchez Roel, por las fotos tomadas durante el proceso de la metodología en el laboratorio. Al personal de vivero de Huarango Nature, y al M.Sc. Oliver Q. Whaley, investigador de Kew Botanical Gardens, director y líder de Proyectos en Perú.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbón, R. (2011). Embriogénesis somática de *Swietenia mahoganii* (L. Jacq.) en medios de cultivo semisólidos. *Revista Forestal Baracoa*, 30, 124.
- Barros, S., & Wrann, J. (1992). El género *Prosopis* en Chile. *Ciencias e Investigación Forestal*, 6(2), 296-334.
- Bridson, D., & Forman, L. (eds.) (1992). *The Herbarium Handbook*. Royal Botanic Gardens. Kew, UK.
- Burghardt, A. D., Brizuela, M. M., Mom, M. P., Albán, L., & Palacios R. A. (2010). Análisis numérico de las especies de *Prosopis* L. (Fabaceae) de las costas de Perú y Ecuador. *Revista Peruana de Biología*, 17(3), 317-323.
- Burkart, A. (1976). A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae) (Parts 1 and 2). *Catalogue of the recognized species of Prosopis*. *Journal of the Arnold Arboretum*, 57, 219-249.
- Cerrate, E. (1969). Manera de Preparar Plantas para un Herbario. Museo de Historia Natural. *Serie de divulgación N° 1*.
- Daquinta, M., Ramos, L., Lezcano, Y., Rodríguez, R., & Escalona, M. (2000). Algunos elementos en la micropropagación de la teca. *Biotecnología vegetal*, 1(2), 39-44.
- Díaz-Celis, A. (1995) *Los algarrobos*. CONCYTEC. Lima, Perú.
- Farjon, A. (2003). The remaining diversity of conifers. *Acta Horticulturae*, 615, 75-89.
- Ferreira, R. (1987). Estudios sistemáticos de los algarrobos de la costa norte de Perú. Dirección de Investigación Forestal y Fauna. Ministerio de Agricultura, Lima, Perú.
- Flores, G., Ferro, R., Vigil, B., Fuentes, S., Pillaca, G., Sánchez, H., Roel, I., Neira, M., Bracamonte, O., & Estrada, R. (2017). Introducción *in vitro* (*Prosopis* sp.). Libro de resúmenes de la XXVI Reunión Científica de ICBAR. (p. 53). Recuperado de

- [<https://biologia.unmsm.edu.pe/noticias/2017/libro%20de%20resumenes2017.pdf>].
- Hunziker, J. H., Poggio, L., Naranjo, C. A., Palacios, R. A., & Andrada, B. (1975). Cytogenetics of some species and natural hybrids in *Prosopis* (Leguminosae). *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 17, 253-262.
- Landeras, G., Alfonso, M., Pasiecznik, N. M., Harris, P. J. C. & Ramirez, L. (2006). Identification of *Prosopis juliflora* and *Prosopis pallida* accessions using molecular markers. *Biodiversity & Conservation*, 15(5), 1829-1844.
- Macbride, J. F. (1948). *Leguminosae*, Flora of Peru. Publ. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 13(3/1), 3-507.
- Medina, C., & Cardemil, L. (1993). *Prosopis chilensis* is a plant highly tolerant to heat shock. *Plant Cell and environment*, 16, 305-310.
- MINAGRI-Ministerio de Agricultura. (2006). Decreto Supremo N° 043-2006-AG: Aprueban Categorización de especies amenazadas de flora silvestre. 13 Julio. El Peruano.
- Minchala-Patiño, J. et al. (2014). Propagación *in vitro* de *Prosopis limensis* Benth. in Hook. (Fabaceae - Mimosoideae). *Quebracho*, 22(1,2), 88-99.
- Mom, M. P., Burghardt, A. D., Palacios, R. A., & Alban, L. (2002) Los algarrobos peruanos: *Prosopis pallida* y su delimitación. *Arnaldoa*, 9(1), 39-48.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Palacios, R. A., Burghardt, A. D., Frías-Hernández, J. T., Olalde-Portugal, V., Grados, N., Albán, L., & Martínez de la Vega, O. (2012). Comparative study (AFLP and morphology) of three species of *Prosopis* of the Section Algarobia: *P. juliflora*, *P. pallida*, and *P. limensis*. Evidence for resolution of the “*P. pallida*-*P. juliflora* complex”. *Plant systematics and evolution*, 298(1), 165-171.
- Palmberg, C. (1987). Conservación de recursos genéticos de especies leñosas. En: Actas del Simposio sobre Silvicultura y Mejoramiento Genético de Especies Forestales. Tomo II, pp. 58-80. Centro de Investigaciones y Experiencias Forestales, Buenos Aires.
- Pasiecznik, N. M., Felker P., Harris, P. J. C., Harsh, L. N., Cruz, G., Tewari, J. C., Cadoret, K., & Maldonado, L. J. (2001). *The Prosopis juliflora-Prosopis pallida complex: a monograph*. Coventry: Henry Doubleday Research Association.
- Patiño, F. (1997). Recursos genéticos de *Swietenia* y *Cedrela* en los neotrópicos: Propuestas para Acciones Coordinadas. FAO. Recuperado el 22 de septiembre de 2020 de [<http://www.fao.org/3/ad111s/AD111S05.htm>].
- Rivera, C. J., Cabrera Pintado, R. M., & Bulnes Soriano, F. (2020). Micropropagación de *Prosopis pallida* (Humb & Bonpl. Ex Willd.) Kunth a partir de yemas apicales. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(1), 18-26.
- Sánchez, H. J. (2002). Determinación de CO<sub>2</sub> en plántulas de *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz emend Burkart (Algarrobo) sometidos a estrés. (Tesis pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Whaley, O., Beresford-Jones, D. G., Milliken, W., Orellana, A., Smyk, A. & Leguia, J. (2011). An ecosystem approach to restoration and sustainable management of dry forest in Southern Peru. *Kew Bulletin*, 65(4), 1-29.
- Whaley, O. Q., Orellana, A., Pérez, E., Tenorio, M., Quinteros, F., Mendoza, M., & Pecho, O. (2010). *Plantas y Vegetación de Ica, Perú-Un recurso para su restauración y conservación*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Whaley, O., Orellana-García, A., & Pecho-Quispe, J. (2019). An Annotated Checklist to Vascular Flora of the Ica Region, Peru—with notes on endemic species, habitat, climate and agrobiodiversity. *Phytotaxa*, 389(1), 1-125.