










# Respuesta germinativa y desarrollo fisiológico *in vitro* de *Guazuma crinita* Mart. a partir de semillas sexuales

## In vitro germination response and physiological development of *Guazuma crinita* Mart. from sexual seeds

Antony Cristhian Gonzales-Alvarado <sup>1,2,5</sup>, Rayme Roxana Tuanama Pinchi <sup>1,6</sup>, Carlos César Arévalo-Salles <sup>1,7</sup>, Jorge Arturo Mori-Vásquez <sup>1,8</sup>, Jesús Selim-Bardales <sup>1,9</sup>, Jorge Manuel Revilla-Chávez <sup>3,10</sup>, Jorge Washinton Vela Alvarado <sup>1,11</sup>, Marx Herrera-Machaca <sup>1,12</sup>, Nathalia de Setta <sup>2,13</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Ucayali. Ucayali, Perú. <sup>2</sup>Universidade Federal do ABC. São Bernardo do Campo, SP, Brasil. <sup>3</sup>Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana – IIAP. Ucayali, Perú. <sup>4</sup>Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios. Puerto Maldonado, Perú. <sup>5</sup>  [antony.gonzales@ufabc.edu.br](mailto:antony.gonzales@ufabc.edu.br); <sup>6</sup>  [tuanama.roxana.fores.95@gmail.com](mailto:tuanama.roxana.fores.95@gmail.com); <sup>7</sup>  [carevalosalles@gmail.com](mailto:carevalosalles@gmail.com); <sup>8</sup>  [jorge\\_mori@unu.edu.pe](mailto:jorge_mori@unu.edu.pe); <sup>9</sup>  [jesus.bardales2003@gmail.com](mailto:jesus.bardales2003@gmail.com); <sup>10</sup>  [jrevilla@iiap.gob.pe](mailto:jrevilla@iiap.gob.pe); <sup>11</sup>  [jorge\\_vela@unu.edu.pe](mailto:jorge_vela@unu.edu.pe); <sup>12</sup>  [mherrera@unamad.edu.pe](mailto:mherrera@unamad.edu.pe); <sup>13</sup>  [nathalia.setta@ufabc.edu.br](mailto:nathalia.setta@ufabc.edu.br)



<https://doi.org/10.15446/acag.v73n1.115223>

2024 | 73-1 p 16-24 | ISSN 0120-2812 | e-ISSN 2323-0118 | Rec.: 2024-06-23 Acep.: 2024-11-21

## Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta y el desarrollo fisiológico *in vitro* de *Guazuma crinita* Mart. El experimento, conducido con diseño completamente al azar, evaluó 5 tratamientos con diferentes medios de cultivo y concentraciones: MS (T2), ½ MS (T3), WPM (T4), ½ WPM (T5) y como testigo (T1) se excluyeron los medios de cultivo y solo se utilizó agar. Cada tratamiento estuvo compuesto por 35 repeticiones, dentro de las cuales la unidad experimental fue un frasco con 4 semillas. Las variables analizadas fueron: porcentaje de germinación (%G), altura aérea (HP), número de nudos (NN), número de hojas (NH), masa fresca (MF) y seca (MS). Los principales resultados demostraron que la utilización de agar (T1) presentó el mayor porcentaje de germinación (63.28 %). En cuanto al desarrollo fisiológico, el medio WPM al 100 % (T4) obtuvo los valores más altos en altura aérea (17.59 cm/planta), número de nudos (5.25 nudos/planta), número de hojas (6.18 hojas/planta), masa fresca (192.8 mg/planta) y seca (24.1 mg/planta). Así mismo, se evidenciaron correlaciones positivas entre las variables estudiadas y, por otra parte, el PCA reveló diferentes agrupamientos entre todos los tratamientos. Estos resultados subrayan la relevancia de seleccionar medios de cultivo adecuados para optimizar tanto la germinación como el desarrollo fisiológico de *G. crinita*.

**Palabras clave:** altura de planta, germinación *in vitro*, medio de cultivo *in vitro*, Murashige y Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM).

## Abstract

The objective of this study was to determine the *in vitro* physiological response and development of *Guazuma crinita*. The experiment, conducted with a completely randomized design, evaluated five treatments with different culture media and concentrations: MS (T2), ½ MS (T3), WPM (T4), ½ WPM (T5), and T1 as a control, where the culture media was excluded and only agar was used. Each treatment consisted of 35 replicates, the experimental unit being a jar with four seeds. The variables analyzed were germination percentage (%G), aerial height (HP), number of nodes (NN), number of leaves (NH), fresh mass (MF), and dry mass (DM). The main results showed that the use of agar (T1) presented the highest germination percentage (63.28 %). Regarding physiological development, 100 % of the WPM medium (T4) presented the highest values in aerial height (17.59 cm/plant), number of nodes (5.25 nodes/plant), number of leaves (6.18 leaves/plant), fresh mass (192.8 mg/plant), and dry mass (24.1 mg/plant), as well as positive correlations between the variables studied. On the other hand, the PCA revealed different groupings for all treatments. These results highlight the importance of selecting appropriate culture media to optimize both germination and physiological development of *G. crinita*.

**Keywords:** *in vitro* culture medium, *in vitro* germination, plant height, Murashige and Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM).

## Introducción

*Guazuma crinita* Mart., conocida como bolaina blanca, es una especie forestal nativa de Ucayali, Perú, que en las últimas décadas ha ganado relevancia debido a su alta demanda por parte de los productores forestales. Esto se debe a su rápido crecimiento y su notable capacidad de rebrote (Revilla-Chávez *et al.*, 2021). Además, posee un notable potencial para proyectos de reforestación y restauración ecológica (Arévalo-Hernández *et al.*, 2024). La madera de bolina blanca tiene múltiples aplicaciones en diversas industrias, incluyendo la fabricación de diversos utensilios, muebles y parihuelas. También se emplea como materia para la obtención de celulosa para la producción de papel (Tuisima-Coral *et al.*, 2020; Casas *et al.*, 2022).

Generalmente *G. crinita* se reproduce a través de semillas biológicas, lo que resulta en una alta variabilidad genética producida por la libre reproducción sexual, y dificulta, de esta manera, la transmisión de características especiales de individuos a su descendencia. A esto hay que agregar que este medio de reproducción limita los estudios sobre fisiología y manipulaciones genéticas.

Para aprovechar las características especiales que podrían tener algunos especímenes de esta especie, como, por ejemplo, mayor velocidad de crecimiento en altura e incremento en volumen, la propagación asexual emplea diversos métodos que facilitan la multiplicación de muchas plantas. Dentro de estos métodos se destaca el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, que consiste en la multiplicación de células, tejidos u órganos de plantas en condiciones controladas (Chen *et al.*, 2016) y a través del cual se puede mejorar el potencial productivo y acelerar el desarrollo fisiológico (Jayusman y Dalimunthe, 2022), así como sentar las bases para futuros programas de mejoramiento genético en plantas leñosas.

El cultivo *in vitro* es un método útil para favorecer la germinación de semillas libres de patógenos. También se constituye como un método rápido y confiable para la propagación debido a las altas tasas de multiplicación que se puede lograr con pequeños fragmentos vegetales, lo cual garantiza el establecimiento de plantas *ex vitro* durante todo el año (Micheli *et al.*, 2020; Sakr, 2022).

Sin embargo, el éxito de la germinación *in vitro* está vinculado a muchos factores; uno de ellos es el tipo de medio de cultivo, ya que su composición desempeña un papel crucial en el desarrollo de las plantas al suministrar sustancias esenciales para el crecimiento de los explantes. El medio de cultivo utilizado con mayor frecuencia es Murashige y Skoog (MS), aunque el Woody Plant Medium (WPM) también ha demostrado ser efectivo para explantes leñosos (Tombion *et al.*, 2023).

Actualmente existen pocos estudios sobre el manejo *in vitro* de *Guazuma crinita*. Estos estudios representan avances parciales en diferentes fases, como la asepsia de semillas biológicas, la exploración de diversas fitohormonas para el desarrollo morfogénico (Gonzales-Alvarado *et al.*, 2022), la micropropagación *in vitro* (Maruyama *et al.*, 1997), la criopreservación (Maruyama, 2002) y el encapsulamiento de brotes *in vitro* (Maruyama *et al.*, 1997). Sin embargo, estos estudios no han abordado de manera integral la optimización del desarrollo fisiológico utilizando los diferentes medios de cultivo disponibles en el mercado. Nuestra investigación plantea que el uso de los medios de cultivo adecuados podría mejorar significativamente tanto la respuesta germinativa como el desarrollo fisiológico *in vitro* de *Guazuma crinita*, estableciendo base sólida para su mejoramiento genético. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la respuesta germinativa y desarrollo fisiológico *in vitro* de *Guazuma crinita* a partir de semillas sexuales, con el fin de establecer un método que permita optimizar el tiempo de germinación y el desarrollo fisiológico para contribuir al mejoramiento genético de la especie.

## Material y métodos

### Lugar de ejecución

La investigación se ejecutó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Meristemas de la Universidad Nacional Ucayali, ubicado dentro en el kilómetro 6.200 de la Carretera Federico Basadre, Ucayali, Perú.

### Origen y desinfección de semillas

Fueron utilizadas semillas biológicas sanas de plantaciones de *G. crinita* establecidas por el Centro Internacional de Investigación Agroforestal (ICRAF) dentro de su programa de domesticación participativa de árboles desarrollado en la región Ucayali en la década del 90 y del 2000.

Para la desinfección de las semillas biológicas fue replicado el protocolo desarrollado por Gonzales-Alvarado *et al.* (2022), el cual se detalla a continuación: 30 minutos de desinfección superficial con 30 g L<sup>-1</sup> de Benlate®, 2 % de hipoclorito de sodio (NaClO) durante 10 minutos, 1 minuto en alcohol comercial de 70 % y 5 enjuagadas con agua destilada esterilizada.

### Medios de cultivo, tratamientos y variables

Como medios de cultivo se utilizaron las formulaciones de Murashige y Skoog (1962), y Lloyd y McCown (1980) (Murashige y Skoog [MS] y Woody Plant Medium [WPM], respectivamente) a diferentes concentraciones. Se aplicaron 5 tratamientos (tabla 1) que son los siguientes: 100 % MS (T2), 50 % MS

(T3), 100 % WPM (T4), 50 % WPM (T5) y el testigo (T1) sin ningún medio de cultivo. En todos los medios de cultivo se agregó 7 g L<sup>-1</sup> de agar (PhytoTech) y 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa. Así mismo, para cada tratamiento, se ajustó el pH a 5.8.

Para cada unidad experimental 25 mL de medio de cultivo fueron vertidos en frascos de 80 mm x 63 mm. Todos los fueron autoclavados a 121 °C; 1.1 atm durante 20 minutos. Luego fueron retirados y enfriados. En cada frasco se inocularon 4 semillas y luego fueron situados en un ambiente de 23 °C ± 2 °C con 75 % de humedad y fotoperiodo de 16 horas. Cada tratamiento estuvo compuesto por 35 repeticiones; la unidad experimental fue un frasco con 4 semillas.

Las variables analizadas fueron porcentaje de germinación (%G), altura aérea de la plántula (HP) (cm/planta), número de nudos (NN), número de hojas (NH), y masa fresca y masa seca (MF/MS) (mg/planta). Para el cálculo de %G, las semillas se consideraron germinadas únicamente cuando la radícula sobresalía 0.1 cm. Las variables HP, NN y NH se evaluaron 120 días después de la inoculación, mientras que el %G fue evaluado 2 veces por semana, durante 30 días.

Para la determinación de masa fresca (mg/planta), 10 plántulas fueron retiradas de los frascos y limpiadas, después fueron pesadas en una balanza analítica digital con precisión de 0.1 mg. Para la masa seca (mg/planta), estas mismas plántulas fueron secadas en una estufa a 70 °C por 72 h, y fueron pesadas nuevamente en una balanza analítica de precisión (Gonzales-Alvarado y Cardoso, 2024).

**Tabla 1.** Tratamientos aplicados y número de repeticiones por tratamientos. MS: 100 %; ½ MS: 50 %; WPM: 100 %; ½ WPM: 50 %

Tratamientos	Composición del medio de cultivo	Número de repeticiones
T1	Agar	35
T2	Agar + MS	35
T3	Agar + ½ MS	35
T4	Agar + WPM	35
T5	Agar + ½ WPM	35
Unidades experimentales		175

**Tabla 2.** Efecto del medio de cultivo en la germinación in vitro de semillas de *G. crinita* Mart.

T	Porcentaje de germinación durante 30 días								
	E0	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
T1	0 <sup>A</sup>	46.09 <sup>A</sup>	55.47 <sup>A</sup>	59.38 <sup>A</sup>	60.94 <sup>A</sup>	61.72 <sup>A</sup>	61.72 <sup>A</sup>	63.28 <sup>A</sup>	63.28 <sup>A</sup>
T2	0 <sup>A</sup>	31.73 <sup>E</sup>	44.23 <sup>D</sup>	45.19 <sup>D</sup>	48.08 <sup>D</sup>	49.04 <sup>C</sup>	49.04 <sup>C</sup>	50 <sup>D</sup>	50.96 <sup>D</sup>
T3	0 <sup>A</sup>	32.29 <sup>D</sup>	36.46 <sup>E</sup>	42.71 <sup>E</sup>	42.71 <sup>E</sup>	45.83 <sup>D</sup>	45.83 <sup>D</sup>	45.83 <sup>E</sup>	46.88 <sup>E</sup>
T4	0 <sup>A</sup>	38.28 <sup>B</sup>	51.56 <sup>B</sup>	57.81 <sup>B</sup>	59.38 <sup>B</sup>	61.72 <sup>A</sup>	61.72 <sup>A</sup>	61.72 <sup>B</sup>	61.72 <sup>B</sup>
T5	0 <sup>A</sup>	37.93 <sup>C</sup>	48.28 <sup>C</sup>	51.72 <sup>C</sup>	55.17 <sup>C</sup>	56.90 <sup>B</sup>	58.62 <sup>B</sup>	58.62 <sup>C</sup>	58.62 <sup>C</sup>

\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba Tukey ( $p < 0.05$ ). T: Tratamientos. E: números de evaluaciones.

## Diseño experimental y análisis de datos

El experimento fue conducido con un diseño completamente al azar (DCA). Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza (ANVA) y cuando los resultados dieron diferencias significativas, fueron sometidos a pruebas de comparación de medias con Tukey al 5 % de significancia ( $\alpha = 0.05$ ). Los datos recopilados de las evaluaciones de las variables y el análisis estadístico fueron procesados en Open Office. Por su parte, el análisis estadístico se realizó en el programa computacional Sistema para Análisis de Variancia (SISVAR 5.6) (Ferreira, 2019). Para determinar las correlaciones, se realizó el análisis de correlación utilizando el coeficiente de correlación de Spearman, con un nivel de significancia del 5 % a partir de las medias, mientras para el PCA se utilizaron todos los datos; para ambos se utilizó el software R Studio.

## Resultados

### Efecto de los medios de cultivo en el porcentaje de germinación

Durante 30 días de evaluación, el porcentaje de germinación (%G) de semillas de *G. crinita* fue mayor en el tratamiento T1, con 46.09 %, 55.47 %, 59.38 %, 60.94 %, 61.72 %, 61.72 %, 63.28 %, 63.28 % para las 8 evaluaciones. Por otro lado, el tratamiento T4 mostró un comportamiento similar al T1 en la quinta evaluación (15 días), en la que ambos fueron estadísticamente semejantes (60.94<sup>a</sup>; 61.72<sup>a</sup>), aunque difirieron con el transcurso del tiempo en las evaluaciones posteriores, como se detalla en la tabla 2.

Todos los tratamientos presentaron una tasa de germinación superior a 50 % ( $> 50$ ), y el T1 se destacó con un 63.28 % sin la presencia de un medio de cultivo y el T4 (61.72 %) que tenía WPM al 100 %. Además, se observó estabilidad numérica de la germinación en la penúltima y en la última evaluación (figura 1).

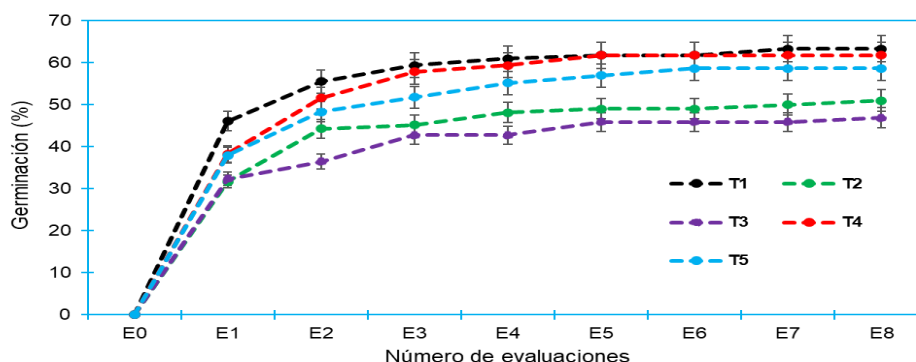


Figura 1. Porcentaje de germinación (%G) en periodo de 30 días. E: evaluación. EF: evaluación final (E8).

## Desarrollo fisiológico

El efecto del medio de cultivo en la altura parte aérea (HP) mostró diferentes respuestas para cada tratamiento. El tratamiento T4 (WPM 100 %) obtuvo el mayor crecimiento (17.59 cm/planta), mientras que el tratamiento T1 mostró el menor crecimiento (5.07 cm/planta) (figura 2A). En cuanto al número de nodos (NN) (figura 2B), los tratamientos T4 y T5 presentaron los valores más altos (5.25 y 4.20 nudos/plantas, respectivamente), mientras T1 obtuvo los valores más bajos (1.93 nudos/plantas). En relación con el número de hojas (NH) (figura 2C), T4 obtuvo mayor número de hojas (6.18 hojas/plantas), mientras T1 obtuvo los valores más bajos (1.26 hojas/plantas). Por otro lado, los tratamientos T2, T3 y T5 mostraron valores intermedios para todas las variables estudiadas sin diferencias estadísticas entre ellas, excepto para la variable NN, cuyos valores intermedios fueron obtenidos en T2 y T3.

Los resultados de producción de masa fresca y seca (MF y MS) indicaron diferencias entre los tratamientos. El tratamiento T4 mostró mayor valor numérico en MF y MS (192.8 y 24.1 mg/planta, respectivamente), lo cual no difirió estadísticamente con los otros tratamientos. Por otro lado, el tratamiento T1 registró los valores numéricos más bajos de MF y MS para ambas variables (55.6 y 6.9 mg/planta, respectivamente). Mientras tanto, el tratamiento T5 obtuvo valores intermedios (114.8 y 14.4 mg/planta, respectivamente), como se muestra en la figura 3a y b.

## Producción de masa fresca y seca, correlación y PCA de las variables

Los resultados de producción de masa fresca y seca (MF y MS) indicaron diferencias entre los tratamientos (figura 3a y b). El tratamiento T4 mostró los mayores valores numéricos en MF y MS, con 192.8 mg/planta y 24.1 mg/planta, respectivamente. Por otro lado, el tratamiento T1 registró los valores numéricos más bajos de MF y MS para ambas variables (55.6 y

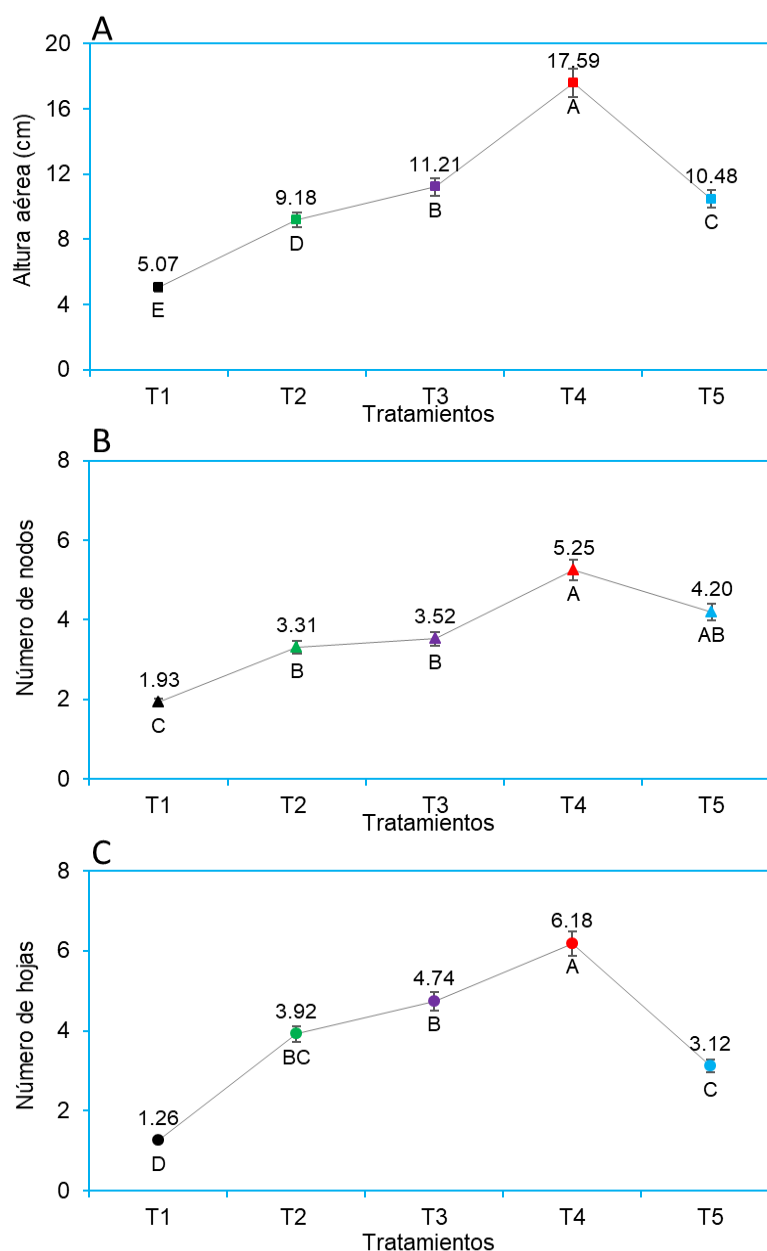
6.9 mg/planta, respectivamente). Mientras tanto, el tratamiento T5 obtuvo valores intermedios (114.8 y 14.4 mg/planta, respectivamente), como se muestra en la figura 3a y b.

El análisis de correlación identificó 10 correlaciones, todas positivas. 9 correlaciones mostraron valores iguales o superiores a 0.90. Específicamente, las variables HP y MF; HP y MS; MF y MS presentaron valor absoluto de correlación de 1 \*\*\*, lo que indica una correlación perfecta entre ellas (figura 4). Por su parte, el análisis del PCA reveló distintos agrupamientos para cada uno de los tratamientos, con 94.4 % de la variación explicada por la primera dimensión (figura 5).

## Discusión

En este estudio, los resultados obtenidos del efecto de los medios de cultivo en la germinación demostraron que el tratamiento T1, compuesto de agar, logró mayor porcentaje de germinación (63.28 %). Estos resultados son similares a los reportados por Gonzales-Alvarado *et al.* (2022), quienes obtuvieron un 72.55 % de germinación utilizando el agente gelificante Fitogel; la utilización de agentes gelificantes facilita la disponibilidad de agua libre (Al-Mayahi y Ali, 2021). Por otra parte, se observó que los tratamientos compuestos por diferentes medios de cultivo en diferentes concentraciones presentaron menores porcentajes de germinación debido a la presencia de sales, lo que genera disminución del potencial hídrico y osmótico del sustrato, y ocasiona que la semilla pierda agua o, en todo caso, demore más tiempo en absorber agua para su germinación (Rodríguez *et al.*, 2014).

En comparación con los tratamientos con MS, los tratamientos con WPM al 100 % y al 50 % obtuvieron los porcentajes más altos de germinación (61.72 % y 58.62 %, respectivamente). La composición del WPM se caracteriza por tener una baja concentración de sales de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , lo cual lo hace ideal para el cultivo de plantas leñosas (Cassells y Curry, 2001). Por otro lado, el MS está compuesto por altas



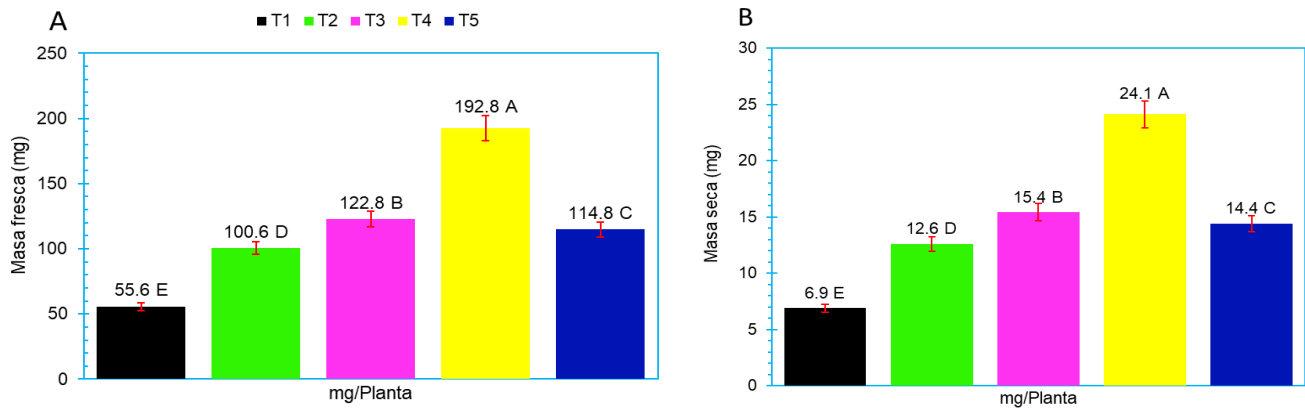
**Figura 2.** Efecto de los medios de cultivo en el desarrollo vegetal de *G. crinita* cultivadas *in vitro*. A: altura aérea (cm/planta). B: número de nodos. C: número de hojas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba Tukey ( $p < 0.05$ ). T1: agar; T2: MS; T3: 50 % MS; T4: WPM; T5: 50 % WPM.

concentraciones de iones de amonio, nitrato, cloro y  $\text{MoO}_4^-$ , y bajas concentraciones de  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y Ca; este último es un componente tóxico para especies leñosas (Parada y Villegas, 2009) porque inhibe los procesos metabólicos y enzimáticos, como en el caso de *G. crinita* (Taiz et al., 2017).

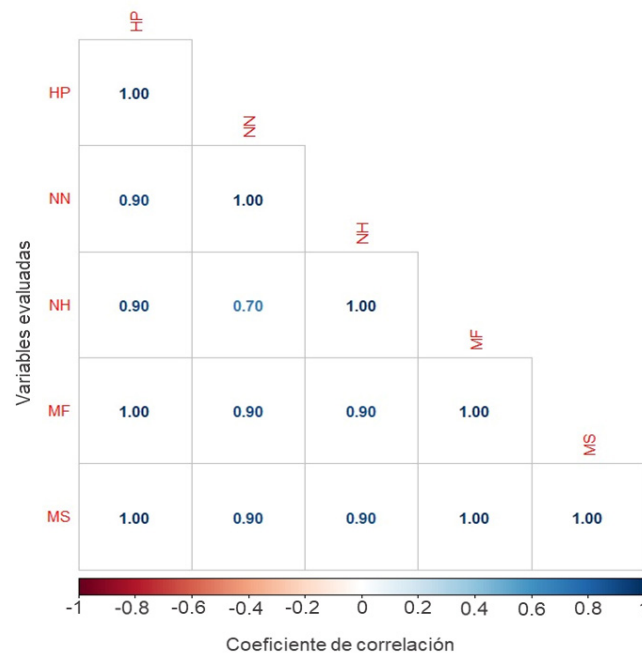
## Desarrollo fisiológico

El desarrollo fisiológico está influenciado por la composición de los medios de cultivo (Lantos et al., 2023). En *G. crinita*, se determinó que la utilización de Woody Plant Medium (WPM) resultó en una mayor altura de planta (HP) (17.59 cm), número de nudos

(NN) (5.25 nudos/planta) y número de hojas (NH) (6.18 hojas/plantas). Resultados similares fueron reportados por Rafael (2023) en *Bertholletia excelsa*, quien obtuvo una altura de 22.5 cm, 2.68 nudos/planta y 2.1 hojas/plantas con la utilización de WPM. Se considera que WPM es esencial para el cultivo de plantas leñosas (Cassells y Curry, 2021; Nowakowska et al., 2019), ya que se ha observado un potencial regenerativo en diferentes especies (Tar et al., 2018) contrarrestando la sensibilidad a las sales de algunas especies leñosas (Lloyd y McCow, 1980; Hechavarría-Pérez et al., 2023); por esta razón se observó un mayor desarrollo de *G. crinita* con el uso de WPM al 100 %.



**Figura 3.** Producción de masa fresca y seca (mg/planta). A: masa fresca (mg/planta). B: masa seca (mg/planta). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba Tukey ( $p < 0.05$ ). T1: agar; T2: MS; T3: 50 % MS; T4: WPM; T5: 50 % WPM.



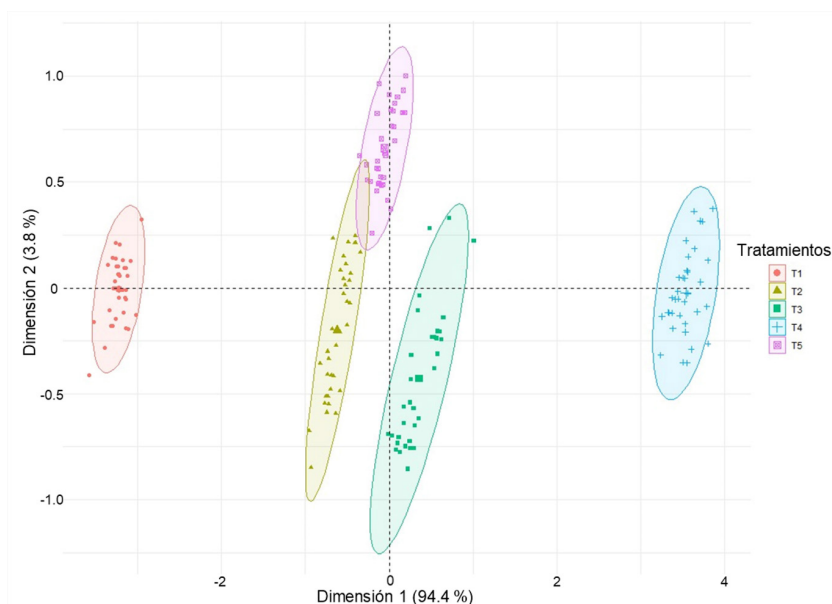
**Figura 4.** Correlación de las variables evaluadas del desarrollo de *G. crinita*. HP: altura de la parte aérea. NN: número de nudos. NH: número de hojas. MF: masa fresca. MS: masa seca.

El mejor crecimiento en altura aérea de la planta, número de nudos y hojas obtenidos en el cultivo *in vitro* de semillas de *G. crinita* en el medio WPM puede relacionarse con el menor contenido de sales, incluido el nitrógeno, en comparación con el medio de cultivo MS (Nowakowska *et al.*, 2019). Según Parada y Villegas (2009), el medio WPM presenta un 25 % de las cantidades de iones nitrato y amonio comparado con el medio MS. Es importante recordar que el WPM fue originalmente formulado para el cultivo de plantas leñosas (Harry y Thorpe, 1994).

Sin embargo, también se debe considerar que para algunas especies leñosas se obtienen mejores resultados con el medio MS. Según Daffalla *et al.* (2022), Sir El-Khatim *et al.* (2022) y Stephen *et al.* (2023) se obtuvieron mayores valores en la parte

aérea (13.51 cm; 9.29 cm; 7.12 cm) con la utilización de MS en *Acacia sieberiana*, *Acacia nubica* y *Cannabis sativa*, respectivamente.

Por otra parte, el hecho de que se obtuvieron mejores resultados con el medio WPM al 100 % que con el medio WPM al 50 %, podría indicar que la concentración de sales y otros compuestos nutritivos presentes en esa concentración son los más adecuados para el desarrollo de las plantas a partir de semillas de *G. crinita*. El tratamiento basado en agar (T1) demostró menor desarrollo, con una altura aérea de 5.07 cm/planta, 1.93 nudos/planta y 1.26 hojas/planta. Esta pequeña dimensión conlleva la disminución de las reservas nutricionales con el tiempo, lo que genera estrés en las plantas y, eventualmente, puede llevar su muerte (Gonzales-Alvarado *et al.*, 2022).



**Figura 5.** Análisis de componentes principales de las variables del desarrollo fisiológico (HP, NN, NH, MF y MS). T1: agar; T2: MS; T3: 50 % MS; T4: WPM; T5: 50 % WPM.

## Producción de masa fresca y seca, correlación y PCA de las variables

La producción de masa fresca y seca es fundamental porque demuestra la capacidad que tienen los explantes para formar tejido. En esta investigación se encontró que la mayor cantidad de masa fresca y masa seca se produjo con la utilización WPM en un periodo de 120 días, con lo cual se obtuvieron 192.8 mg/planta y 24.1 mg/planta de MF y MS, respectivamente.

Resultados semejantes fueron reportados por Gonzales-Alvarado y Cardoso (2024) en *Melaleuca alternifolia*, quienes obtuvieron los mayores valores de MF (180 mg/planta) y MS (15 mg/planta) en condiciones ambientales similares a las de esta investigación. Por el contrario, el tratamiento T1 obtuvo los valores más bajos (56 mg/planta; 7 mg/planta) de MF y MS, respectivamente. Este resultado se debe a que este tratamiento no recibió ningún medio de cultivo, el cual actúa como fuente nutricional para el desarrollo vegetal.

Los resultados obtenidos respaldaron nuestra hipótesis, demostrando que el uso de medios de cultivo resultó superior en comparación con el testigo compuesto únicamente por agar. En particular, el medio de cultivo WPM destacó al proporcionar las mejores respuestas fisiológicas. Por otro lado, las plantas germinadas exclusivamente en agar dependieron de las reservas nutricionales de la semilla para su desarrollo. Sin embargo, la falta de nutrientes esenciales en el medio afectó significativamente su crecimiento, lo que se reflejó en una menor MF y MS (55.6 mg/planta y 6.9 mg/planta, respectivamente). Estos resultados coinciden con los reportados por Gonzales-Alvarado *et al.* (2022).

El análisis de correlación entre las variables identificó correlaciones positivas absolutas (1 \*\*\*) entre HP y MF, HP y MS y MF y MS (figura 4). Resultados similares fueron reportados por Gonzales-Alvarado y Cardoso (2024); Sarropoulou *et al.* (2023); Bello-Bello *et al.* (2016) en especies de *Melaleuca alternifolia*, Cereza y *Vanilla planifolia*, respectivamente, quienes observaron altas correlaciones positivas entre las variables analizadas. Estos hallazgos subrayan la importancia de la correlación entre la altura de la planta y la masa fresca y la masa seca, la cual refleja el crecimiento y desarrollo saludables de las plantas en medios de cultivos apropiados para esta especie, como es el WPM.

## Conclusiones

Se determinó que el agar permite mayor tasa de germinación (63.28 %) y que el WPM favoreció el desarrollo fisiológico de *Guazuma crinita*, pues alcanzó los valores más altos en todas las variables evaluadas: HP (altura de la planta) 17.59 cm/planta, NN (número de nudos) 5.25 nudos/planta, NH (número de hojas) 6.18 hojas/planta, MF y MS (masa fresca y seca) 192.8 mg/planta y 24.1 mg/planta, respectivamente.

Estos resultados subrayan la relevancia de seleccionar medios de cultivo adecuados para optimizar tanto la germinación como el desarrollo fisiológico de *G. crinita*. Las principales contribuciones de esta investigación abren nuevas posibilidades para el mejoramiento genético y la propagación *in vitro*. En investigaciones futuras sería relevante explorar la optimización de otros factores fisiológicos, como el potencial osmótico del medio de cultivo, los azúcares clave para el desarrollo de las plantas, así como la

adaptación a diferentes condiciones ambientales. Además, el análisis molecular de las respuestas al estrés en estos medios podría contribuir a mejorar la eficiencia del crecimiento y la capacidad de respuesta de *G. crinita* ante condiciones adversas.

## Agradecimientos

Agradecemos al Fondo de Desarrollo Socioeconómico de Camisea (FOCAM) de la Universidad Nacional de Ucayali por el financiamiento de esta investigación, aprobada mediante la Resolución N° 990-2022-UNUCU-R. También extendemos nuestro agradecimiento a los colaboradores que participaron en las fases de campo y gabinete, así como a los revisores anónimos por sus valiosas sugerencias para mejorar este manuscrito.

## Referencias

- Al-Mayahi, A. M. W. y Ali, A. (2021). Effects of different types of gelling agents on *in vitro* organogenesis and some physicochemical properties of date palm buds, Showathy cv. *Folia oecologica*, 48(1), 110-117. <https://doi.org/10.2478/foecol-2021-0012>.
- Arévalo-Hernández, C.; Arévalo-Gardini, E.; Correa V. J.; Souza Júnior, J. y Neves, J. (2024). Soil characteristics and allometric models for biometric characteristics and nutrient amounts for high yielding "Bolaina" (*Guazuma crinita*) trees. *Scientific Reports*, 14(1), 2444. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52790-1>.
- Bello-Bello, J. J.; Martínez-Estrada, E.; Caamal-Velázquez, J. H. y Morales-Ramos, V. (2016). Effect of LED light quality on *in vitro* shoot proliferation and growth of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). *African Journal of Biotechnology*, 15(8), 272-277. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14662>.
- Casas, G. G.; Gonzáles, D. G. E.; Villanueva, J. R. B.; Fardin, L. P. y Leite, H. G. (2022). Configuration of the deep neural network hyperparameters for the hypsometric modeling of the *Guazuma crinita* Mart. in the Peruvian Amazon. *Forests*, 13(5), 697. <https://doi.org/10.3390/f13050697>.
- Cassells, A. C. y Curry, R. F. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: Implications for micropropagators and genetic engineers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 64, 145-157. <https://doi.org/10.1023/A:1010692104861>.
- Chen, B.; Li, J.; Zhang, J.; Fan, H.; Wu, L. y Li, Q. (2016). Improvement of the tissue culture technique for *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Forestry Research*, 27, 1265-1269. <https://doi.org/10.1007/s11676-016-0301-7>.
- Daffalla, H. M.; Ali, K. S.; Osman, M. G. y Yahya, Y. O. (2022). Rapid germination and development of *Acacia sieberiana* DC *in vitro*. *Notulae Scientia Biologicae*, 14(2), 11176. <https://doi.org/10.55779/nsb14211176>.
- Ferreira, D. F. (2019). SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Brazilian Journal of Biometrics*, 37(4), 529-535. <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.
- Github. (s. f.). quillt. Github. <https://github.com/rstudio/quillt>.
- Gonzales-Alvarado, A. C. y Cardoso, J. C. (2024). Development, chlorophyll content, and nutrient accumulation in *in vitro* shoots of *Melaleuca alternifolia* under light wavelengths and 6-BAP. *Plants*, 13(20), 2842. <https://doi.org/10.3390/plants13202842>.
- Gonzales-Alvarado, A. C.; Mori-Vasquez, J. A.; Tuisima-Coral, L. L. y Revilla-Chávez, J. M. (2022). Influencia de la desinfección, medios de cultivo y fitohormonas en el desarrollo morfogénico *in vitro* de germoplasma de *Guazuma crinita* Mart. *Folia Amazónica*, 31(1), 57-70. <https://doi.org/10.24841/fa.v31i1.572>.
- Harry, I. S. y Thorpe, T. A. (1994). Regeneration of plantlets through organogenesis from mature embryos of jack pine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 37, 159-164. <https://doi.org/10.1007/BF00043610>.
- Hechavarría-Pérez, L.; Rascón-Valenzuela, L. A.; Tejeda-Mansir, A.; Pérez-Burgos, J. A. y Ayala-Astorga, G. I. (2023). Composición química, actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa del extracto de callos derivado de *Acalypha californica* Benth. *Polibotánica*, 56, 203-223. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.56.11>.
- Jayusman, L. y Dalimunthe, A. (2022). Season, basal media and plant growth regulators effect in wood plant *in vitro* propagation: A comprehensive review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1115(012051). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1115/1/012051>.
- Lantos, C.; Jancsó, M.; Székely, Á.; Szalóki, T.; Venkatanagappa, S. y Pauk, J. (2023). Development of *in vitro* anther culture for doubled haploid plant production in indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Plants*, 12(9), 1774. <https://doi.org/10.3390/plants12091774>.
- Lloyd, G. y McCown, B. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings-International Plant Propagator's Society*, 30, 421-427.
- Maruyama, E. (2002). Cryopreservation of *Guazuma crinita* Mart. (*Guazuma*). En Towill, L. E., Bajaj, Y. P. S. (eds.) *Cryopreservation of plant germplasm II. Biotechnology in agriculture and forestry*, vol. 50. Berlín, Heidelberg: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-04674-6\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-662-04674-6_18).
- Maruyama, E.; Ishii, K.; Kinoshita, I.; Ohba, K. y Saito, A. (1997). Micropropagation of *Guazuma crinita* Mart. By root and petiole culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 33, 131-135. <https://doi.org/10.1007/s11627-997-0011-0>.
- Maruyama, E.; Kinoshita, I.; Ishii, K.; Shigenaga, H.; Ohba, K. y Saito, A. (1997). Alginate-encapsulated technology for the propagation 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, 393-396. <https://doi.org/10.1007/BF01146780>.
- Micheli, M.; Prosperi, F.; Facchin, S. y Fernandes, D. (2020). Safeguard of plant germplasm through the *in vitro* culture. *Horticulture International Journal*, 4(2), 50-52. <https://doi.org/10.15406/HIJ.2020.04.00157>.
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Nowakowska, K.; Pacholczak, A. y Tepper, W. (2019). The effect of selected growth regulators and culture media on regeneration of *Daphne mezereum* L. 'Alba'. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 30, 197-205. <https://doi.org/10.1007/s12210-019-00777-w>.

- Parada, P. D. M. y Villegas, M. A. (2009). In vitro propagation of almond x peach hybrid H1. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(2), 103-109.
- Rafael Quille, J. L. (2023). Efecto de los niveles de sacarosa y sales en la multiplicación *in vitro* de castaña (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) - Puerto Maldonado - Madre de Dios - 2020. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios. Madre de Dios, Perú].
- Revilla Chávez, J. M.; Abanto-Rodríguez, C.; Guerra Arévalo, W. F.; García Soria, D.; Guerra Arévalo, H.; Domínguez Torrejón, G.; Gabriel da Silva y Carmo, I. L. (2021). Modelos alométricos para estimar el volumen de madera de *Guazuma crinita* en plantaciones forestales. *Scientia Agropecuaria*, 12(1), 25-31. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.003>.
- Rodríguez, M.; Chacón, M. y Carrillo, R. (2014). Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo MS sobre la germinación *in vitro* de *Ugni molinae*. *Bosque (Valdivia)*, 35(1), 119-122. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002014000100012>.
- Sakr, N. (2022). In vitro methodology to assess quantitative resistance in plant-fungus pathosystems. *The Open Agriculture Journal*, 17(1), E187433152210120. <https://doi.org/10.2174/18743315-v16-e221020-2022-HT14-3623-4>.
- Sarropoulou, V.; Sperdouli, I.; Adamakis, I.-D. y Grigoriadou, K. (2023). The use of different LEDs wavelength and light intensities for in vitro proliferation of cherry rootstock: Influence on photosynthesis and photomorphogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 152(2), 317-330. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02408-z>.
- Sir El-Khatim, A. K.; Daffalla, H. M.; Osman, M. G. y Musa, A. (2022). Germination and early growth of *Acacia nubica* Benth. *in vitro*, 2022120385. <https://doi.org/10.20944/preprints202212.0385.v1>.
- Stephen, C.; Zayas, V. A.; Galic, A. y Bridgen, M. P. (2023). Micropropagation of hemp (*Cannabis sativa* L.). *HortScience*, 58(3), 307-316. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16969-22>.
- Taiz, L.; Zeiger, E.; Møller, I. M. y Murphy, A. (2017). *Fisiología e desenvolvimento vegetal*. São Paulo: Artmed Editora.
- Tar, K. Y. K.; Naing, A. H.; Ai, T. N.; Chung, M. Y. y Kim, C. K. (2018). Optimization of factors influencing in vitro immature seed germination in *Chionanthus retusus*. *Journal of Plant Biotechnology*, 45(4), 347-356. <https://doi.org/10.5010/JPB.2018.45.4.347>.
- Tombion, L.; Coviella, M. A.; Pannunzio, M. J.; Soto, M. S. y Bologna, P. (2023). Germinación *in vitro* de *Calibrachoa thymifolia* y *Calibrachoa missionica* nativas de la Argentina. *Tecnología en Marcha*, 36(3), 127-133. <https://doi.org/10.18845/tm.v36i3.6142>.
- Tuisima-Coral, L. L.; Hlásná Čepková, P.; Weber, J.C. y Lojka, B. (2020). Preliminary evidence for domestication effects on the genetic diversity of *Guazuma crinita* in the Peruvian Amazon. *Forests*, 11(8), 795. <https://doi.org/10.3390/f11080795>.