

BIOTECNOLOGÍAS APLICADAS A ESPECIES FORESTALES NATIVAS PARA RESTAURACIÓN ECOSISTÉMICA

Sandra Sharry^{1,2,3*}, Blanca Villarreal^{1,3}, Marina Adema^{1,5},
Sebastián Galarco¹, Diego Ramilo¹, Laura Pincioli^{1,5}, Mariano
Velázquez¹, Tatiana Cinquetti¹, Martín Ramos¹, Daniela Dalzotto^{2,4},
Christian Weber^{1,3}, Juan Manuel Cellini¹, Victoria Lien López^{1,4} y
Patricia Boeri²

RESUMEN

El proyecto de investigación multidisciplinar “Caracterización, propagación y viverización de especies vegetales (forestales, arbustivas y herbáceas) priorizadas para procesos de restauración ambiental” propone generar nuevo conocimiento sobre esta temática, como acciones concretas enmarcadas en la restauración ambiental de diferentes paisajes. En Argentina existe un cuello de botella por causa de la poca disponibilidad en cantidad y calidad de material vegetal de propagación de especies priorizadas para restauración. Son necesarios protocolos de propagación que permitan obtener un número de individuos en las cantidades que se requieren para procesos de restauración. La investigación en el campo de la biotecnología vegetal ha permitido desarrollar herramientas apropiadas para la conservación, caracterización y propagación de infinidad de especies vegetales. La micropropagación y el almacenamiento *in vitro*, son algunas de las biotécnicas más sencillas que pueden utilizarse para apoyar programas de propagación de plantas, junto con la macropropogación y los ensayos de semillas. En este trabajo presentamos se presentan algunos resultados del proyecto, específicamente la optimización de

¹ Laboratorio de Investigaciones de la Madera (LIMAD), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. La Plata, Argentina. * correo: ssharry@agro.unlp.edu.ar

² Universidad Nacional de Río Negro. Sede Atlántica. CIT Río Negro.

³ Comisión de Investigaciones Científicas de Buenos Aires. CICPBA

⁴ CCT La Plata - CONICET

⁵ Ministerio de Ambiente de la Provincia de Buenos Aires.

protocolos de germinación de *Polylepis tarapacana* y la micropropagación de *Neltuma caldenia* y *N. alpataco*, *Geoffroea decorticans*, *Erythrina crista-galli*, *Parkinsonia aculeata* y *Vacchellia caven*.

PALABRAS CLAVE

Neltuma, *Polylepis tarapacana*, *Vacchellia*, *Parkinsonia*, *Erythrina*.

Introducción

Los ecosistemas forestales de Argentina se han visto afectados por una drástica disminución de sus recursos por la sobreexplotación, lo que ha acentuado su progresiva degradación y deterioro. El Plan nacional de restauración de bosques nativos de Argentina (Res 267/2019), enmarcado en la década de la restauración, requiere plantines forestales nativos para ser establecidos a campo. Para poder cumplir con este desafío en plazos relativamente cortos, es necesario incorporar soluciones tecnológicas que permitan la producción masiva de materiales de propagación de calidad y sanidad controlada. El proyecto de investigación multidisciplinar denominado “Caracterización, propagación y viverización de especies vegetales (forestales, arbustivas y herbáceas) priorizadas para procesos de restauración ambiental” propone generar conocimientos sobre esta temática, así como acciones concretas enmarcadas en la restauración ambiental de diferentes paisajes. Son pocas las experiencias exitosas y bien documentadas de propagación masiva de especies nativas que cuenten con la integralidad de criterios ecológicos, genéticos, silviculturales y sociales para este objetivo. Las especies exóticas han recorrido un proceso de estudio, conocimiento y domesticación más amplio y continuo que podría ser adaptado en parte para especies nativas con potencial uso en restauración (Villota *et al.*, 2020). En los últimos años, la investigación en el campo de la biotecnología vegetal ha permitido desarrollar técnicas o herramientas apropiadas para la conservación, caracterización, y propagación de infinidad de especies vegetales. La micropropagación, y el almacenamiento *in vitro*, son algunas de las biotécnicas más sencillas que pueden utilizarse para apoyar programas de propagación de plantas,

junto con la macropropagación y los ensayos de semillas (Sharry et al, 2015). En este trabajo presentamos algunos resultados del mencionado proyecto, específicamente la optimización de protocolos de germinación de *Polylepis tarapacana*, especie arbórea endémica de Argentina, y la micropropagación de leñosas nativas (*Neltuma*, *Erythrina*, *Parkinsonia* y *Vachellia*). También se iniciaron ensayos para producir unidades encapsulables de *Neltuma*. Materiales y métodos

La producción de plántulas para cada especie involucra requerimientos específicos que deben ser ajustados para lograr su protocolo de propagación. En el caso de *P. tarapacana*, se realizaron ensayos de germinación. Para las demás especies (*Neltuma*, *Erythrina*, *Parkinsonia* y *Vachellia*) se aplicaron las metodologías de micropropagación. Las tareas abarcan la selección y georreferenciación a campo de las plantas madres, la obtención de explantes en jardines clonales y su acondicionamiento y desinfección, la introducción *in vitro* de diferentes explantes, la inducción de morfogénesis, el enraizamiento de brotes y la aclimatación de los mismos. El proceso termina con la rusticación y recría en viveros hasta su reintroducción en el ecosistema.

Germinación de frutos de *Polylepis tarapacana*

Se calculó la producción de frutos mediante el método de relación del diámetro (Chapman *et al.*, 1992) contando el número de frutos en dos ramas de un individuo y extrapolando al resto de las ramas del árbol en 93 árboles provenientes de 14 sitios de muestreo (22°04'–23°40'S a 66°46'–65°49'W) en la Provincia de Jujuy, con una elevación entre 4375 y 4751 msnm. Asimismo, en otro muestreo se realizó una colecta de semillas a campo, en dos ubicaciones (Cerro Ramadas 22°11'S-66°37'W, Cerro Granada 22°33'S-66°31'W), recolectando frutos en 31 parcelas según cuatro gradientes de elevación, baja (<4400 m), dos valores intermedios (4400-4600 y 4600-4800 m) y alta (>4800 m). Se caracterizó la estructura forestal en diámetro en la base (DAB - cm) de cada individuo, la altura (H - cm), la cobertura de cada individuo (CC - cm²), y se asignó una forma de vida: arborescente (Ar), árboles enanos (Dt), arbustos (Sh) o brousse tigrée (Bt) a cada

individuo según López *et al.* (2023). Se clasificaron todos los frutos en intervalos de 1 mg. Se realizaron experimentos de germinación para evaluar los efectos principales y combinados del origen de elevación y la sequía en el rendimiento de la germinación, utilizando un diseño experimental factorial. Para el ensayo de germinación se utilizaron cajas Petri de vidrio y papel filtro estéril con 10 ml de líquido. Para simular el estrés por sequía, utilizamos una solución de Manitol ($\Psi = -0.8\text{MPa}$ según Zhang *et al.* (2017) y se compararon con un control ($\Psi = 0\text{MPa}$) preparado con agua destilada (Michel & Kaufmann 1973; Villela *et al.* 1991). Se armaron 706 placas Petri, y se colocaron en gabinetes de pruebas climáticas, modelo 2301 (RUMED, Laatzten, Alemania) con un rango de temperatura de 20°C de día (12 horas), 10°C de noche (12 horas) (Seltmann *et al.*, 2007; Marcora *et al.*, 2008) con condiciones de luz blanca fría (400–700nm). Se registró el número de frutos germinados cada 2 o 3 días, relevando fecha y el número de observaciones de frutos con protrusión de la radícula (ISTA, 2006). Se calculó el porcentaje de germinación como el número de frutos germinados, con respecto al total. Se ajustó una regresión no lineal entre la producción de frutos por ha. (PFPT) y el DAB, la H y CC discriminando por la forma de vida según López *et al.*, (2023). Se estimó la producción de frutos por ha y se realizó un ANOVA de una vía entre el porcentaje de germinación total y, como respuestas, la elevación y tratamiento osmótico (0 -0.8 MPa). Cuando el ANOVA indicó una diferencia, realizamos pruebas *post-hoc* de Tuckey ($p < 0.05$). Las pruebas de normalidad se realizaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. En caso de incumplimiento, se aplicó Kruskal-Wallis y las diferencias con la prueba de Conover-Iman a $p < 0.05$.

Micropropagación de *Neltuma sp* y *Geoffroea decorticans*

Los explantes del género *Neltuma* se obtuvieron de semillas germinadas *in vitro*, con un proceso de escarificación mecánica para romper la dormancia. En el caso de *G. decorticans*, el material de partida fue seleccionado de plantas cultivadas en condiciones de invernadero. Las semillas de *Neltuma spp.* fueron desinfectadas con una inmersión

en etanol (70% v/v) entre 1 y 5 minutos, seguido de una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) (20-30% v/v) durante 20-30 minutos. Luego las semillas fueron enjuagadas tres veces con agua destilada estéril. Los explantes de *G. decorticans* extraídos de plantas de invernadero fueron desinfectados mediante una inmersión en una solución al 10% de NaClO durante 10 minutos, seguida de enjuagues repetidos con agua destilada estéril. Las semillas de *N. alpataco*, *N. flexuosa* y *N. caldenia* fueron colocadas para germinar en medio de cultivo MS (Murashig- Skoog, 1962) a la mitad de la concentración, mientras que los explantes desinfectados de *G. decorticans* fueron cultivados en Woody Plant Medium (WPM-Lloyd and McCown, 1981) a la mitad de la concentración. Ambos medios de cultivo fueron suplementados con sacarosa (3 g.L⁻¹) y agar (7 g/L). Al cabo de 3 semanas, las plántulas obtenidas de la germinación *in vitro* de *N. caldenia* y *N. flexuosase* se cortaron aproximadamente a 1 cm del nudo cotiledonar (desde el hipocotilohipocótilo y conservando los cotiledones), y luego se les quitó el ápice. Para *G. decorticans* se utilizaron como explantes segmentos uninodales. Como regulador de crecimiento se utilizó la citoquinina BAP (6-Bencilaminopurina) para inducir la formación de brotes múltiples a concentraciones de: 4,4 – 6,7 y 8,8 µM, para *N. caldenia* (tres repeticiones de 15 explantes, N=45), 22 µM para *N. flexuosa* (tres repeticiones de ocho explantes, N=24) y 5 mg/L para *G. decorticans* (tres repeticiones de 15 explantes, N=45). Para ambos casos se mantuvieron explantes testigo cultivados en medios libres de reguladores de crecimiento. Luego de 1 mes para los explantes de *Neltuma spp.* y 5 meses para los de *G. decorticans*, se registró el porcentaje final de explantes con brote y callo y el número de brotes por explante.

Para elaborar unidades encapsulables (UE) de *N. alpataco* se utilizó una matriz de alginato de sodio al 2% estéril, en la cual se sumergieron yemas axilares de plantas germinadas *in vitro* de tres meses de crecimiento; estas yemas axilares fueron recogidas con una pipeta en una gota de alginato de sodio y rápidamente sumergidas en una solución de cloruro de calcio (CaCl₂) 100 mM estéril durante 5 minutos. Luego, las UE fueron extraídas de la solución de CaCl₂ y dispuestas en una placa de Petri con medio MS a la mitad de la concentración

para evaluar su porcentaje de conversión (crecimiento de la yema y emergencia de la cápsula de alginato).

Microestaquillado de *Erythrina crista-galli* (seibo), *Vachellia caven* (espinillo) y *Parkinsonia aculeata* (cina-cina)

El material de partida fueron microestacas obtenidas de vitroplantas. Las semillas se acondicionaron, desinfectaron y sembraron en 2 medios de cultivo como se muestra en el Cuadro 1. El medio de aislamiento consiste en una mezcla de agua, azúcar (20gr/L) y agar (6 gr/L) y el Medio MS/2 está formulado sólo con los macro y micronutrientes de Murashige-Skoog a la mitad de su concentración, ambos sin reguladores de crecimiento. El pH de los medios de cultivo se midió con potenciómetro electrónico y se ajustó a 5.8 - 6,2 con hidróxido de sodio 1N y ácido cítrico. Los mismos se esterilizaron en autoclave a 120°C, durante 20 minutos y a 1 atmósfera de presión. Las secciones nodales provenientes de las vitroplantas (30 días de cultivadas) se colocaron en medio MS/2 adicionado con BAP (1mg/L) + Ácido Naftalenacético-NAA (0,5 mg/L) para inducir la formación de brotes. El medio WPM/2 con 30 g/L de sacarosa y 7,5 g/L de agar, adicionado con NAA (0,1 mg/L) se usó para inducir enraizamiento. Para la aclimatación de las plantas se utilizaron envases de plástico con sustrato estéril mezcla de tierra-perlita (3: 2) y se las cubrió con bolsas de nylon. Los cultivos fueron mantenidos en cámaras climatizadas, la fuente de luz proviene de lámparas LED con 16 hs de luz y 8 hs de oscuridad. La temperatura se reguló en 21°C +/- 2°C.

CUADRO 1. Acondicionamiento y germinación de semillas de seibo, espinillo y cina-cina

Especie	Acondicionamiento y Desinfección	Medios de cultivo	Tiempo aprox. de exposición al medio de cultivo
<i>Erythrina crista-galli</i> (seibo)	Hipoclorito de sodio comercial al 50% durante 1 h de inmersión. Peróxido de hidrógeno (5 v/v) durante 1 hora. Enjuagues con agua estéril (3).	- Aislamiento - MS /2	10 - 20 días 1 o 2 meses
<i>Vacbellia caven</i> (Espinillo)	Ácido sulfúrico 98%, durante 2 h. Lavado con agua corriente (10 min). Desinfección: etanol 70% (5 minutos) e hipoclorito de sodio 20% (30 minutos). Enjuagues con agua estéril (3).	- Aislamiento - MS /2	10 - 20 días 1 mes a 70 días (aprox.)
<i>Parkinsonia aculeata</i> (cina- cina)	Hipoclorito de sodio comercial al 50% durante 1 h de inmersión. Peróxido de hidrógeno (5 v/v), durante 1 hora. Enjuagues con agua estéril (3).	- Aislamiento - MS /2	10 - 20 días 1 mes a 70 días (aprox.)

Resultados

Polylepis tarapacana

Producción de frutos

Los individuos de *P. tarapacana* presentaron un marcado gradiente de CC, DAB, H y PFPT (Tabla 1). La PFPT promedio fue de 811 por árbol, variando entre 0 y 5232.

Tabla 1. Rangos de las variables medidas y producción de frutos en diferentes formas de vida de *P. tarapacana* en el norte argentino

Forma		CC	DAB	HT	PFPT
Ar	Min	425.0	1.0	22.5	0
	Prom	5971.5	11.0	107.6	949
	Máx	21572.0	26.0	256.0	5232
Dt	Min	298.7	4.0	46.0	2
	Prom	4734.2	12.6	134.0	1596
	Máx	10917.1	20.5	206.0	4728

Sh	Min	1311.7	2.2	31.0	1
	Prom	11775.1	7.8	101.7	783
	Máx	47614.9	26.0	247.0	5136
Bt	Min	3639.9	1.1	31.0	2
	Prom	10301.4	4.5	60.4	150
	Máx	16517.7	12.0	84.5	738
Total	Min	298.7	1.0	22.5	0
	Prom	9017.2	8.7	99.8	811
	Máx	47614.9	26.0	256.0	5232

PFPT: Producción de frutos de *P. tarapacana* en n por individuo, H: Altura total en cm, CC: Cobertura en cm², DAB: Diámetro en cm en la base, arborescente (Ar), árboles enanos (Dt), arbustos (Sh) o brousse tigrée (Bt) según López *et al.*, (2023), Mín: mínimo, Prom: promedio, Máx: máximo.

El modelo para predicción de PFPT para diferentes formas de vida presentó un buen ajuste en MSEError, Sigma y AIC: **PFPT=(-DAB*CC)^a** donde: “a” es el parámetro de la ecuación, que toma diferentes valores para cada forma de vida (Ar=0.6134, Dt=0.6741, Sh=0.5875 y Bt=0.4772). El modelo presentó una tendencia significativa positiva y se observó que la cantidad de frutos que producen fue diferente para las diferentes formas de vida. La producción de frutos por hectárea no presentó diferencias significativas dadas por la elevación en msnm, por la ubicación geográfica ni por la pendiente, siendo el promedio de 1075044.8 ± 751667.1 Frutos.ha⁻¹. El peso promedio por fruto fue de 0,0055 g y varió entre 0,0025 y 0,0174 g. En relación a el peso de frutos, vemos que la frecuencia de los pesos presentó un marcado desplazamiento hacia los mayores pesos dado por la elevación (Figura 1), donde los frutos más livianos corresponden a las elevaciones más bajas.

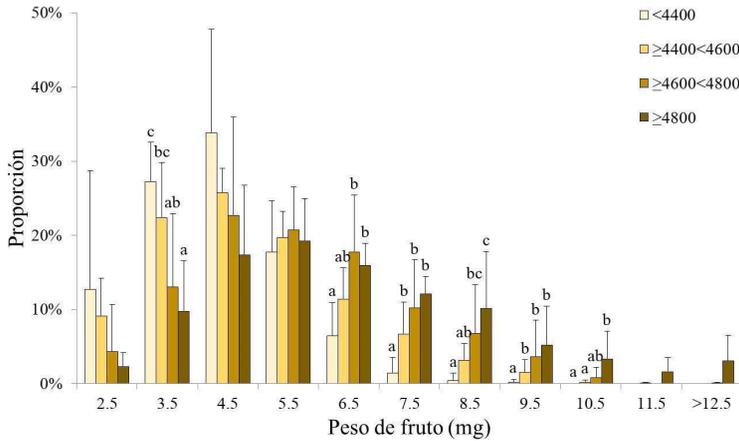


Figura 1. Histograma de frecuencia en porcentaje del peso de semillas de *P. tarapacana* en un gradiente de elevación en el Altiplano Jujeño, Argentina. Elevación en msnm. Las diferencias se determinaron mediante comparaciones de medias con la prueba de Conover-Iman a $p < 0,05$.

Germinación de *P. tarapacana*

Los promedios de germinación presentaron diferencias dadas por la elevación y el peso de las semillas (Tabla 2), con un promedio de 18.3%. A elevaciones bajas, el poder germinativo es significativamente mayor, siendo más del doble que en elevaciones superiores. De acuerdo con Renison y Cingolani (1998), la presencia de frutos no viables ocurre con mayor frecuencia en lugares donde las poblaciones de *Polylepis* son reducidas o con individuos aislados, situación habitual en las poblaciones de *P. tarapacana* en las mayores elevaciones (>4600 msnm) (López *et al.*, 2022).

Tabla 2. ANOVA del porcentaje de germinación discriminados por elevación y peso de frutos para los tratamientos con (sequía) y sin manitol ($\Psi = -0.8$)

Variable	Factor	n	$\Psi=0$	$\Psi=-0.8$
Elevación (msnm)	<4400	19	28.6 \pm 3.8 b	15.6 \pm 3.5 b
	$\geq 4400 < 4600$	36	26.4 \pm 2.7 b	17.4 \pm 2.5 b

	≥4600<4800	26	11.4±3.2 a	2.9±2.9 a
	≥4800	23	9.9±3.4 a	2.7±3.1 a
	F		8.71	7.48
	p		<0.0001	0.0001
Peso de frutos (mg)	<4	26	0.5±3.2 a	0.7±3.0 a
	≥4<6	28	8.5±3.1 a	4.1±2.8 ab
	≥6<8	28	22.7±3.1 b	11.7±2.8 b
	≥8	22	44.2±3.6 c	23.6±3.3 c
	F		31.25	11.50
	p		<0.0001	<0.0001

Las diferencias se determinaron mediante comparaciones de medias con la prueba de Conover-Iman a $p < 0,05$.

Con el tratamiento con Manitol la germinación de *P. tarapacana* disminuye a menos de la mitad. La germinación de frutos se encuentra influenciada por la disponibilidad de agua y el peso estos. Frutos con un peso inferior a 4 mg presentaron un poder germinativo inferior al 1%, tanto para el tratamiento con agua como para el de Manitol. A medida que el peso aumenta, el poder germinativo es mayor, alcanzando valores de 44.2% en frutos de más de 8 mg. Se demostró que el aumento de la masa de frutos dentro de las especies se correlaciona con un aumento en la germinación de semillas (Cordazzo, 2002; Hitchmough & Vera, 2002). Las semillas más grandes pueden tener un mayor éxito de establecimiento, ya que proporcionan más reservas para las plántulas (Moles & Westoby, 2004), por otro lado, las semillas más ligeras podrían tener una mayor distancia de dispersión, teniendo en cuenta que la dispersión en *P. tarapacana* se da por el viento (Moles & Westoby, 2004; Seiwa & Kikuzawa, 2011).

Micropropagación de especies forestales nativas

Se han ajustado los protocolos de micropropagación por estaquillado de *Erythrina crista-galli* (seibo), *Vachellia caven* (espinillo), *Parkinsonia aculeata* (cina-cina), y por organogénesis de *Neltuma caldenia* y *Geoffroea decorticans* (chañar).

La adición de citoquininas al medio de cultivo tuvo influencia en la producción de brotes de *Neltuma* spp y *G. decorticans*. En el caso de *N. flexuosa*, se obtuvieron alrededor de 4 brotes por explante (Figura 2 A), mientras que en la ausencia de reguladores de crecimiento se observó 1 brote. Los explantes cotiledonares de *N. caldenia* en presencia de BAP desarrollaron $6 \pm 0,4$ brotes por explante, sin embargo, la mayoría no superaron los 0,5 cm de longitud (Figura 2 B). Por otro lado, el mayor porcentaje de brotes elongados se observó en la concentración de $4,4 \mu\text{M}$ (33%), aunque el mayor número de brotes por explante se obtuvo en el medio de cultivo adicionado con $6,7 \mu\text{M}$ de BAP ($2,3 \pm 0,5$ brotes). El 40% de los explantes de *N. caldenia*, tanto en el control como en los tratamientos, forman brotes. Se observó un alto porcentaje de callos en los explantes de ambas especies del género *Neltuma* (entre 40 y 100%), tanto con BAP como en los controles. En el caso particular de *N. caldenia*, luego de 1 mes transcurrido el ensayo, los callos cubren la totalidad del explanto y los nuevos brotes. En el caso de *G. decorticans*, el porcentaje de explantes con brotes múltiples fue del 11%. Aquellos brotes que elongaron en el medio de cultivo, incluso sin la presencia de raíces, fueron transferidos al sustrato y se mantuvieron bajo condiciones de luz, agua y temperatura controladas. En este proceso, se logró enraizar y aclimatar un 25% de los explantes transferidos. Por otro lado, luego de 15 días, un 10% de las yemas de *N. alpataco* encapsuladas en alginato lograron emerger de la matriz (Figura 3), un 20% desarrollaron callo dentro de la misma pero no convirtieron y el resto de los explantes presentaron oxidación de los tejidos.

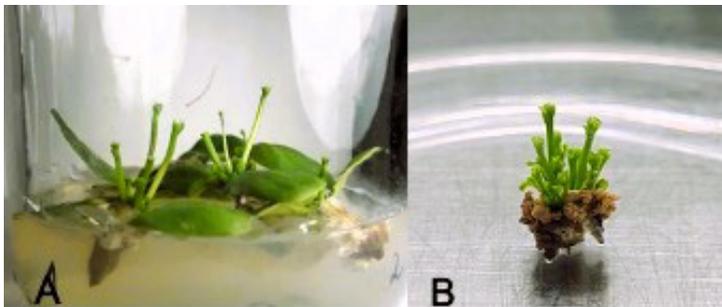


Figura 2 A. Brotes múltiples de *N. flexuosa*. **Figura 2 B.** Brotes múltiples de *N. caldenia* antes de elongar con callo en la base del explante.



Figura 3. Brote de *N. alpataco* emergiendo de semilla sintética

Para la germinación *in vitro* de semillas y obtención de plántulas de seibo, espinillo y cina-cina se observó que el medio MS/2 fue el más adecuado. El medio MS/2 adicionado con BAP (1 mg/L) + NAA (0,5 mg/L) fue el más conveniente para el alargamiento de brotes preformados de las 3 tres especies. Dichos brotes se pasaron a medio de enraizamiento WPM/2 con NAA (0.1 mg/L) y se obtuvieron plantas completas que fueron aclimatadas a partir de los 40-70 días dependiendo de la especie (Cuadro 2). Se establecieron, por primera vez, los métodos para multiplicar *in vitro*, mediante microestaquillado, de estas especies (Figuras 4 A.B y C).

Especie	Material (explanto)	Medios de Cultivo		Aclimatación de plantas completas
		Inducción	Enraizamiento	
<i>Erythrina crista-galli</i> (seibo)	Secciones nodales de plántulas germinadas <i>in vitro</i>	MS/2 adicionado con BAP (1mg/L) + NAA (0,5 mg/L)	WPM/2 adicionado con NAA (0,1mg/L)	a partir de los 25-30 días de iniciado el cultivo
<i>Vachellia caven</i> (espinillo)	Secciones nodales de plántulas germinadas <i>in vitro</i>	MS/2 adicionado con BAP (1mg/L) + NAA (0,5 mg/L)	WPM/2 adicionado con NAA (0,1mg/L)	a partir de los 50 días de iniciado el cultivo

<i>Parkinsonia aculeata</i> (cina- cina)	Secciones nodales de plántulas germinadas <i>in vitro</i>	MS/2 adicionado con BAP (1mg/L) + NAA (0,5 mg/L)	WPM/2 adicionado con NAA (0,1mg/L)	a partir de los 70 días de iniciado el cultivo
---	---	--	------------------------------------	--

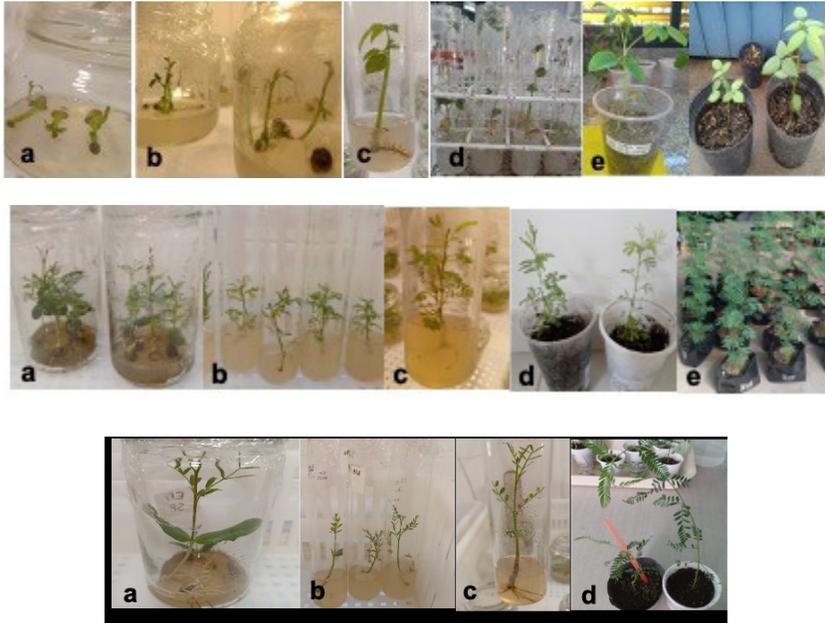


Figura 4. Microestaquillado de tres especies nativas de Argentina: A *Erythrina crista-galli* (seibo); B *Vachellia caven* (espinillo); C *Parkinsonia aculeata* (cina- cina)

Conclusiones

Con nuestro trabajo buscamos generar conocimiento para la caracterización, conservación *in situ* y *ex situ* y propagación de bajo costo, de germoplasma vegetal, con el fin de obtener material de propagación de calidad para procesos de restauración. Hasta el momento se ha logrado analizar la reproducción sexual por semillas de *P. tarapacana* ya que este conocimiento es imperativo para la conservación y restauración de los bosques nativos. Se micropropagaron plantas de *Neltuma*

alpataco, *N. caldenia*, *Geoffroea decorticans*, *Erythrina crista-galli* y *Parkinsonia aculeata*. El CTV, es una biotecnología simple que, en contexto de la Década de la restauración ecosistémica, se convierte en una poderosa herramienta para restaurar ecosistemas forestales degradados. La consolidación de mecanismos de propagación, domesticación y establecimiento a campo de los recursos genéticos, permite desarrollar programas de restauración ecosistémica a nivel nacional. Las actividades del proyecto también involucran el desarrollo de fichas técnicas, acompañamiento de la producción en vivero y la capacitación de RRHH.

Referencias

- Chapman, C.A., Chapman, L.J., Wangham, R., Hunt, K., Gebo D. & Gardner L. 1992. Estimators of fruit abundance of tropical trees. *Biotropica*, 24(4): 527-531. <https://doi.org/10.2307/2389015>
- Cordazzo C. V. (2002). Effect of seed mass on germination and growth in three dominant species in southern Brazilian coastal dunes. *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia*, 62(3), 427-435. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842002000300005>
- Cordazzo, C.V. (2002). Effect of seed mass on germination and growth in three dominant species in southern Brazilian coastal dunes. *Brazilian journal of biology*, 62(3), 427-435.
- Hitchmough, J. (2002). [Review of Grazing Ecology and Forest History, by F. W. M. Vera]. *Garden History*, 30(2), 263-263. <https://doi.org/10.2307/1587257>
- Hitchmough, J., & Vera, F. (2002). Grazing Ecology and Forest History. *Garden History*, 30, 263. <https://doi.org/10.2307/1587257>
- International Seed Testing Association ISTA. (2006). *ISTA Handbook on Seedling Evaluation, Third Edition* (ed. R. Don). International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- Lloyd, G., & McCown, B. (1981). Commercially Feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagators Society*, 30, 421-427.

- López, V. L., Botta, L., Martínez Pastur, G., Lencinas, M. V., Cuycens, G. A. E., & Cellini, J. M. (2023). Characterization of *Polylepis tarapacana* Life Forms in the Highest-Elevation Altiplano in South America: Influence of the Topography, Climate and Human Uses. *Plants*, 12(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/plants12091806>
- López, V. L., Huertas Herrera, A., Rosas, Y. M., & Cellini, J. (2022). Optimal environmental drivers of high-mountains forest: *Polylepis tarapacana* cover evaluation in their southernmost distribution range of the Andes. *Trees, Forests and People*, 9, 100321. <https://doi.org/10.1016/j.tfp.2022.100321>
- Marcora, P., Hensen, I., Renison, D., Seltmann, P., & Wesche, K. (2008). The performance of *Polylepis australis* trees along their entire elevational range: Implications of climate change for their conservation. *Diversity and Distributions*, 14, 630-636.
- Michel, B.E. & Kaufmann, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51, 914-6.
- Moles, A. T., & Westoby, M. (2004). Seedling survival and seed size: A synthesis of the literature. *Journal of Ecology*, 92(3), 372-383. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00884.x>
- Murashige, T., and Skoog, (1962). Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
- Renison, D., Cingolani, A. (1998). Experiencias en germinación y reproducción vegetativa aplicados a la reforestación con *Polylepis australis* (Rosaceae) en las Sierras Grandes de Córdoba, Argentina. *Agriscientia*, 15, 47-53. <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v15.n0.2607>
- Seiwa, K., & Kikuzawa, K. (2011). Phenology of tree seedlings in relation to seed size. *Canadian Journal of Botany*, 69, 532-538. <https://doi.org/10.1139/b91-072>
- Seltmann, P., Cocucci, A., Renison, D., Cierjacks, A., & Hensen, I. 2009. Mating system, outcrossing distance effects and pollen availability in the wind-pollinated treeline species *Polylepis australis* BITT. (Rosaceae). *Basic and Applied Ecology*, 10, 52-60.

- Sharry, S., Adema, M., Abedini, W. (2015). *Plantas de probeta. Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro*. EDULP. Argentina. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/46738>
- Villela, F.A., Doni, F.L., & Sequeira, E.L. (1991). Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26, 1957-1968.
- Villota, L., Torres-Romero, F., Rodríguez, E., Sánchez, J., Avella M., A. (2020). *Domesticación de plantas nativas empleadas en procesos de restauración ecológica. Un nuevo enfoque para la propagación y el viverismo*. Fundación Natura
- Zhang, S., Kang, H., & Yang, W. (2017). Climate change-induced water stress suppresses the regeneration of the critically endangered forest tree *Nyssa yunnanensis*. *PLOS ONE*, 12, e0182012.