



PERÚ

Ministerio
de Agricultura



Instituto Nacional de Innovación Agraria

EL PERÚ PRIMERO



BANCO MUNDIAL
BIRF-AIF GRUPO BANCO MUNDIAL



RESULTADOS DEL PROYECTO 122_PI

“Producción clonal de árboles plus de Ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii*) a partir de individuos identificados genéticamente por su calidad de fuste e inserción de rama”

Instituto Nacional de Innovación Agraria
Programa Nacional de Innovación Agraria
Estación Experimental Agraria Pichanaki, Anexo San Ramón, agosto 2020



Figura 1. Árbol adulto de *Retrophyllum rospigliosii*, situado en el Santuario Nacional Tabaconas Namballe, 2018, Foto tomada por Evelin Salazar.

CONTENIDO

1. Introducción
2. Antecedentes
3. Problema identificado
4. Hipótesis
5. Objetivo
6. Metodología
7. Resultados
8. Conclusiones
9. Recomendaciones

INTRODUCCIÓN

- Un árbol plus, es un árbol fenotípicamente sobresaliente en una o varias características de interés económico. El objetivo de seleccionar un árbol plus es utilizarlos como progenitores para las poblaciones de mejoramiento y producción (Ipinza, 1998).
- La selección se da en plantaciones forestales y en bosques naturales, con definición de características con condiciones: variación genética, importancia económica y control genético.
- A nivel de Sudamérica; Chile, Uruguay y Brasil, lideran en programas de mejoramiento genético con especies de eucalipto y pino. En Perú existen pocos estudios, una iniciativa para Selva Central es la selección masal que realizaron en 104 árboles, siendo 15 de Ulcumano (Aguirre y Fassbender, 2013).
- El proyecto 122_PI, tiene por finalidad albergar variabilidad genética, con el fin de establecer las bases silviculturales para futuros programas de mejora genética en esta especie específica.

INTRODUCCIÓN:

- El Ulcumano es una de las pocas especies coníferas nativas en la región tropical de Sudamérica, se encuentra muy afectada por la deforestación y a la tala de los ejemplares maduros, ya que su madera es muy preciada.
- Existen pocos estudios de la especie en la región, y son direccionados principalmente a la densidad de la madera y a metabolitos secundarios como terpenos; sin embargo, carece de estudios ligados a genética forestal.
- El INIA estableció en la década de los 80, ensayos de plantaciones bajo tres sistemas de plantación: fajas de enriquecimiento, silvopastoriles y agroforestales a partir de una colecta múltiple, pero no se realizaron datos de pasaporte lo que permitiría efectuar una selección masal.
- Con el presente proyecto, se identificó áreas de distribución geográfica de la especie y los árboles de mejor calidad a nivel de fuste (lineal), tipificado genéticamente por el tipo de fuste, para posteriormente realizar trabajos de propagación clonal
- Esta tecnología podría ser introducida a los productores madereros y silvicultores ya que se contaría con características fenotípicas y genéticas favorables a largo plazo.



Figura 2. clones de árboles plus de *Retrophillum rospigliosii*, Anexo San Ramón, INIA EEA Pichanaki
Foto tomada por José Ramírez.



Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

ANTECEDENTES

- El Proyecto “Producción clonal de árboles plus de Ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii*) a partir de individuos identificados genéticamente por su calidad de fuste e inserción de rama” nace a partir de una necesidad identificada en una mesa forestal realizada en el año 2014 en Pichanaki, organizada por el INIA.
- El proyecto fue presentado en el año 2015 al concurso convocado por el Programa Nacional de Innovación Agraria - PNIA, y fue adjudicada para su financiamiento, iniciando sus actividades en el mes de marzo del año 2016 en el anexo San Ramón de la Estación Experimental Agraria Pichanaki del INIA.
- Al secuenciar genéticamente árboles plus de Ulcumano, se determinarán sus marcadores genéticos asociados al fuste lineal y a la inserción de ramas, esto servirá de base para más proyectos de investigación y en la toma de decisiones a nivel del sector forestal.

PROBLEMA IDENTIFICADO

- Una de las principales problemáticas de la especie es su lento desarrollo vegetativo (30 años para 30 cm de diámetro) y su reducido porcentaje de germinación (inferior al 50 por ciento) es una limitante en la producción de plantones.
- Es una especie dioica, sus semillas son del tipo recalcitrante las cuales son consumidas por coleópteros antes de ser diseminadas. Además es susceptible a los cambios supra-anuales del clima, por ello la producción de semillas se ve afectada drásticamente.
- Así mismo presenta un dimorfismo en el fuste del árbol (lineal o divergente), ramificación (gruesa y delgada) y el tipo de rama (cortas y alargadas), estos caracteres se expresan posterior a los 10 años de la siembra de las semillas. Todos estos antecedentes generan una pérdida económica en los productores madereros de la región.



Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

HIPOTESIS

- La población de árboles seleccionados de ulcumano posee un 30% de árboles plus comprobados genéticamente.



Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

OBJETIVO

- Incrementar la producción de plantones clonales de Ulcumano a partir de individuos tipificados genéticamente por la calidad del fuste e inserción de ramas

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Implementación de un jardín para el establecimiento de las colectas realizadas en la región Selva Central (Junín y Pasco)
- Evaluación de la diversidad genética de la especie *Retrophyllum rospigliosii* en la Selva Central del Perú.
- Identificación de marcadores genéticos asociados a los árboles plus (F1) y multiplicación clonal (F2)
- Difusión de resultados



Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

METODOLOGIA

- **OBJETIVO 1:** Implementación de un Jardín para el establecimiento de las colectas realizadas en la región Selva Central (Junín y Pasco).
- **A1.** Colecta expedicionaria y desarrollo de datos de pasaporte: Para el desarrollo de esta actividad, se colectó muestras vegetativas para estudios de diversidad genética de cada árbol seleccionado, además de colecta de muestras botánicas para su herborización, las cuales están depositadas en el Herbario INIA San Ramón (HSRI) del Anexo San Ramón. Así mismo los materiales colectados están registrados en una base de datos a través de datos pasaportes.
- **A2.** Implementación de un jardín para el establecimiento de las accesiones colectadas: El jardín clonal se estableció en el anexo San Ramón con accesiones seleccionadas de las regiones (Pasco, Junín, Apurímac, Cusco y Cajamarca).
- **A3.** Selección de árboles con carácter dasométrico y morfológico óptimos para identificar como árboles plus: La selección se realizó evaluando sus caracteres con descriptores morfológicos, dasométricos y otros, de los árboles in situ, a fin de identificar los materiales candidatos a plus.

Metodología del objetivo 1:

Selección de arboles candidatos a plus y colecta de material vegetativo

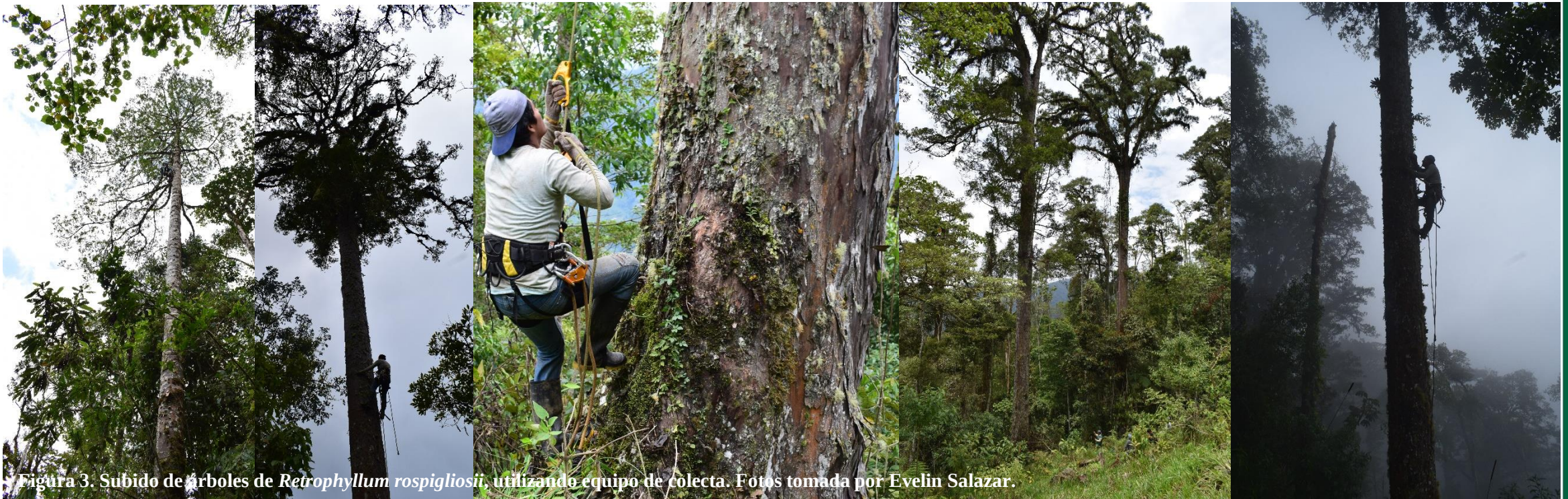


Figura 3. Subido de árboles de *Retrophyllum rospigliosii*, utilizando equipo de colecta. Fotos tomada por Evelin Salazar.

- OBJETIVO 2: Evaluación de la diversidad genética de la especie *Retrophyllum rospigliosii* en la Selva Central del Perú.
- A1. Extracción de ácidos nucleicos: Se dio a partir de hojas colectadas de los árboles seleccionados a través de la metodología CTAB según Doyle y Doyle (1990), con algunas modificaciones propuesto por Souza (2014), para reducir el contenido de polisacáridos e incrementar la concentración, después de ello se evaluó la calidad de los DNAs cuantificándolos en un nanofotómetro NP80 (Implen[®]) y evaluando la relación 260/280 para luego ser liofilizados y enviados a Australia para su secuenciamento.
- A2. Caracterización genética de los árboles colectados: Se resuspendió los DNAs y se realizó un control de la concentración por fluorimetría (QuantiFluor[®]), un subconjunto de las muestras fueron visualizados en el Genomic DNA Screen Tape (Agilent[®]) las cuales pasaron el control de calidad. A fin de identificar el conjunto de enzimas óptimas para el desarrollo de ddRADseq, se evaluó los perfiles de digestión (PstI/MspI, Pst/MseI, Pst/NlaIII, PstI/HpyCh4IV, EcoRI/MspI, EcoRI/MseI, EcoRI/ NlaIII y EcoRI/HpyCh4IV) con tres muestras de DNA de Ulcumano. El perfil de digestión enzimático óptimo para los trabajos de ddRADseq fue EcoRI/MseI. El protocolo de preparación de librerías de ddRADseq fue según lo reportado por Peterson et al (2012), brevemente: i) las muestras fueron digeridas con la enzimas EcoRI/MseI, ii) posteriormente se realizó el ligamiento de los adaptadores de barcode compatible con los sitios de restricción que se sobrelapan, iii) la selección del tamaño de los fragmentos ligados-digeridos usando Blue Pippin, iv) Amplificación de las Librerías mediante PCR utilizando los primers indexados. Las librerías fueron evaluadas en un secuenciador Illumina Nextseq con una producción de 150 bp.

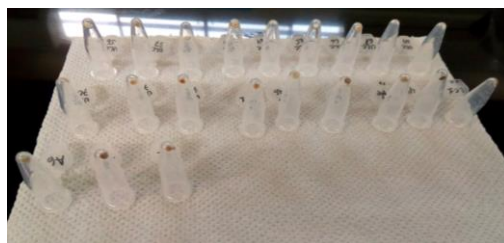
Metodología del objetivo 2:



PREPARACION DEL MATERIAL DE CAMPO EN EL LABORATORIO



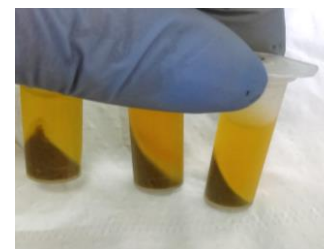
SEPARACION EN FASES ORGANICAS, ELIMINANDO LIPIDOS Y PROTEINAS POR DISOLUCION EN COMPUESTOS ORGANICOS



ELIMINACION DE RESTOS DE ALCOHOL POR SECADO A TEMPERATURA AMBIENTE, PASO PREVIO Y NECESARIO A LA RESUSPENSION DEL ADN



HOMOGENIZACION MECANICA DEL TEJIDO CON NITROGENO LIQUIDO



LAVADO DE TEJIDO FOLIAR CON SORVITOL PARA REDUCIR COMPUESTOS POLISACARIDOS

PROCESO DE OBTENCION DE ADN GENOMICO EN LA ESPECIE *Retrophyllum rospigliosii*



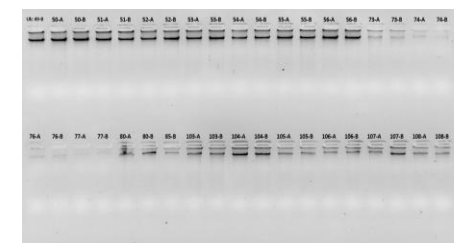
INCUBACION DEL TEJIDO CON EL BUFFER DE EXTRACCION PARA LISIS CELULAR, DEGRADACION DE LIPIDOS Y PROTEINAS



FORMACION DEL ANILLO DE PRECIPITACION DE ACIDOS NUCLEICOS POR EL USO DE ISOPROPANOL HELADO



INCUBACION DEL PRODUCTO DE LA EXTRACCION A 37°C PARA PERMITIR LA ACCION DE LAS ARNASAS



EJEMPLO DE GEL DE AGAROSA CON DIFERENTES CANTIDADES DE ADN DE ULCUMANO

- OBJETIVO 3: Identificación de marcadores genéticos asociados a los árboles plus (F1) y multiplicación clonal (F2)
- A1. Genotipificación de árboles plus a través de nuevas técnicas de secuenciamiento (Genotyping by sequencing): Las secuencias en formato fastq fueron descargadas al servidor de la DDTA – INIA denominado Alfresco, para ser analizadas. Las lecturas fueron separadas de acuerdo a sus identificadores únicos con el programa “process_radtags” del paquete Stacks v2.51 (Rochette et al., 2019) usando parámetros estándar. En la Tabla suplementaria 1 se encuentran las muestras con sus identificadores únicos.
- A2. Identificación de marcadores asociados al fuste lineal: La identificación de SNPs también se realizó con el Stacks v2.51 usando parámetros estándar y con un filtro inicial de frecuencia alélica menor de 0.01 y mínimo porcentaje de individuos genotipados de 60% por locus por población. El VCF inicial fue filtrado con el programa VCFtools v0.1.17 (Danecek et al., 2011). Las muestras con más de 60% de loci no genotipados fueron eliminadas. Las muestras restantes fueron usadas para análisis subsiguientes. Finalmente, los loci fueron filtrados para que haya un máximo de 5% de individuos no genotipados, una frecuencia alélica mínima de 0.05, una profundidad mínima por locus de 10 lecturas por individuo, equilibrio de hardy-weinberg ($p\text{value} \leq 1 \times 10^{-10}$) y equilibrio de ligamiento mayor a 0.1 ($LD \geq 0.1$).

- OBJETIVO 3: Identificación de marcadores genéticos asociados a los árboles plus (F1) y multiplicación clonal (F2)
- A3. Inducción de brotes en árboles plus (F0): el experimento fue instalado en el Anexo San Ramón, donde se injertaron 240 patrones de Ulcumano, a su vez se sometieron a diferentes dosis de ácido giberélico (0 ppm 1000 ppm, 3000 ppm y 5000 ppm), en doce tratamientos con la finalidad de evaluar la inducción de brotes y la efectividad de tres tipos de injertos (Copula, Hendidura simple y Silla o Sostén).
- A4. Obtención de esquejes y enraizamiento de los plantones clonales con calidad superior (F0) y multiplicación clonal de los árboles plus (F0): Se propagaron vegetativamente al ulcumano utilizando dos métodos; el primer en cámaras de subirrigación y el segundo por injertos, teniendo 25 repeticiones por cada individuo seleccionado.
- OBJETIVO 4: Difusión de resultados
- A1. Participación en Congresos Nacionales y/o Internacionales: Los resultados del proyecto fueron presentados en al menos un congreso nacional.
- A2. Publicación de artículos científicos: Se publicará en una revista científica indizada.

Metodología del objetivo 3:

Propagación vegetativa del Ulcumano por el método injertos y en cámaras de subirrigación





Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

RESULTADOS

INDICADOR DEL OBJETIVO:

- ✓ Obtención de material plus caracterizado morfológicamente y genéticamente
- Reporte de análisis de datos GBS para Ulcumano
- Protocolo de extracción de ADN del Ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii*).
- ✓ Artículos científicos presentados:
 - Cuatro artículos elaborados; 01 publicado en la revista Forestal Venezolana, 02 sometidos a sumisión en la revista Ecología Aplicada y revista Peruana de Biología, y 01 en borrador.





Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

- OBJ1A1. Se colectó material vegetativo en las regiones de Cajamarca, Cuzco, Apurímac, Junín y Pasco; obteniendo un total de 750 muestras de árboles candidatos a plus. Las especies involucradas son *Retrophyllum rospiglosii*, *Podocarpus glomeratus*, *Podocarpus oleifolius*, *Prumnopitys montana*.
- OBJ1A2. La implementación del jardín clonal se realizó en el vivero del Anexo San Ramón de la E.E.A. Pichanaki; para ello se cuenta con un total de 571 injertos vivos, de los cuales 173 árboles son plus, comprobados genéticamente en 31 procedencias; cabe mencionar que estas serán sometidos a podas continuas para evitar el crecimiento vertical, ya que están instaladas en envases de 18 litros.
- OBJ1A3. Se seleccionó 108 árboles candidatos a plus (F0), evaluando sus características morfológicas y dasométricas según el formato establecido. La procedencia de los árboles corresponde a las regiones de Cusco, Apurímac, Cajamarca, Pasco y Junín. Para la selección de estos árboles se abarcó por microcuencas en cada distrito tratando de cubrir toda la superficie. Dentro de las restricciones de selección también se tuvo en cuenta la distancia entre individuos para evitar el parentesco, cabe señalar que no existe un rango de distancia establecido. Asimismo el Ulcumano por ser una especie dioica, se ha tratado en lo posible identificar a los árboles hembras y machos, por ello el 15% de la población son árboles machos, esto fue posible gracias a la presencia de inflorescencia principalmente.

INDICADOR DEL OBJETIVO ESPECIFICO:

N° 1: “Número de hectáreas plantada con árboles de ulcumano identificados por su carácter plus”.

- ✓ Se estableció el jardín clonal en el Anexo San Ramón con un área total de 160 m².
- ✓ Condiciones adecuadas de seguridad e infraestructura
- ✓ Se instalaron injertos de 108 árboles seleccionados de colectas realizadas en las regiones Cajamarca, Apurímac, Cusco, Junín y Pasco.
- ✓ De todos los injertos 31 árboles poseen el carácter plus asociado al fuste lineal y a la inserción de ramas.



- OBJ2A1. Se realizó la extracción de 500 muestras de 108 árboles, los cuales fueron liofilizados y enviados a Australia para su secuenciamiento en Australian Genome Research Facilities (<https://www.agrf.org.au/>).
- OBJ2A2. En los resultados los ADNs tuvieron concentraciones altas, con ligeras variaciones en el ratio 260/280, no obstante del procedimiento empleado aún presentaba restos de polisacáridos, estas fueron procesadas con un paso adicional para la recuperación de los ADNs resuspendidos. En promedio para las 95 muestras se recuperaron 24.5 millones de lecturas con un mínimo de 502 mil lecturas para la muestra ULC18 y un máximo de 71.4 millones de lecturas para ULC10. La identificación inicial de SNPs produjo 355,590 sitios variables con una profundidad promedio de 17X por locus por muestra (mín = 4.2X; máx = 37.7X; sd = 5.4X). En promedio se genotiparon 79 muestras por locus con un índice de diversidad nucleotídica (π) de 0.19887. Luego de la limpieza y filtrado, se obtuvieron un total de 44,745 SNPs. Este set final contiene 25,265 transiciones y 19,480 transversiones ($TsTv = 1.30$). Los dos mayores componentes principales explican el 17% (EV1) y el 4% (EV2) de la varianza total encontrada en la población. El análisis de identidad por estado se realizó con el fin de estimar la distancia genética entre los individuos de la población sin asumir ningún nivel de consanguinidad en la población, la matriz de similitud obtenida entre los individuos de la población se observan dos grandes grupos claramente diferenciados por su distancia genética.

INDICADOR DEL OBJETIVO ESPECIFICO 2:

N° 2: “Estudio de la diversidad genética y su estructura genética del Ulcumano”

- ✓ Se cuenta con los estudios sobre la diversidad genética y con un protocolo de extracción del ADN para la especie ulcumano.
- ✓ La diversidad genética del ulcumano muestra dos grandes grupos claramente diferenciados por su distancia génica, sin asumir ningún nivel de consanguinidad en la población.

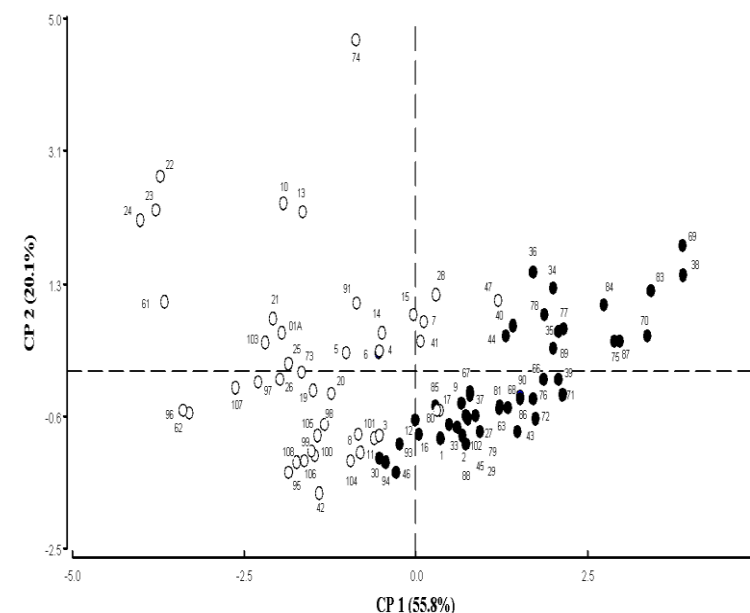


Figura 4. Agrupamiento de los materiales de Ulcumano colectados a través del Análisis de Componentes Principales ha permitido la discriminación de los materiales Plus (●) y No Plus (○)

- OBJ3A1. Se genotiparon 79 muestras por locus con un índice de diversidad nucleotídica (π) de 0.19887. Luego de la limpieza y filtrado, se obtuvieron un total de 44,745 SNPs. Este set final contiene 25,265 transiciones y 19,480 transversiones ($TsTv = 1.30$). Los dos mayores componentes principales explican el 17% (EV1) y el 4% (EV2) de la varianza total encontrada en la población.
- OBJ3A2. El análisis de identidad por estado se realizó con el fin de estimar la distancia genética entre los individuos de la población sin asumir ningún nivel de consanguinidad en la población, la matriz de similaridad obtenida entre los individuos de la población se observan dos grandes grupos claramente diferenciados por su distancia génica. Al igual que en el ACP, el AIPE identificó dos grupos genéticos claramente diferenciados.
- OBJ3A3. Se cuentan con los resultados del experimento instalado en el Anexo San Ramón, donde se injertaron 240 patrones de Ulcumano, a su vez se sometieron a diferentes dosis de ácido giberélico (0 ppm 1000 ppm, 3000 ppm y 5000 ppm), en doce tratamientos con la finalidad de evaluar la inducción de brotes y la efectividad de tres tipos de injertos (Copula, Hendidura simple y Silla o Sostén) establecidos. Teniendo que el injerto de tipo Copula es el más efectivo y que no necesita la adición de hormonas para tener mayores brotes.
- OBJ3A4. Se propagó 2706 clones y a la actualidad se cuenta con 571 clones vivos (F0) por el método de propagación por injertos, y 5 explantes enraizados (F0) y repicados por el método de propagación en cámaras de subirrigación.

INDICADOR DEL OBJETIVO ESPECIFICO 3:

N° 3: “Set de marcadores para la identificación de árboles plus por su fuste lineal”

- ✓ El suecuenciamiento se realizó en Australia en Australian Genome Research Facilities (<https://www.agrf.org.au/>) donde identifica dos grupos genéticos claramente diferenciados, por ello 31 árboles son considerados plus de las regiones Cajamarca y Pasco.

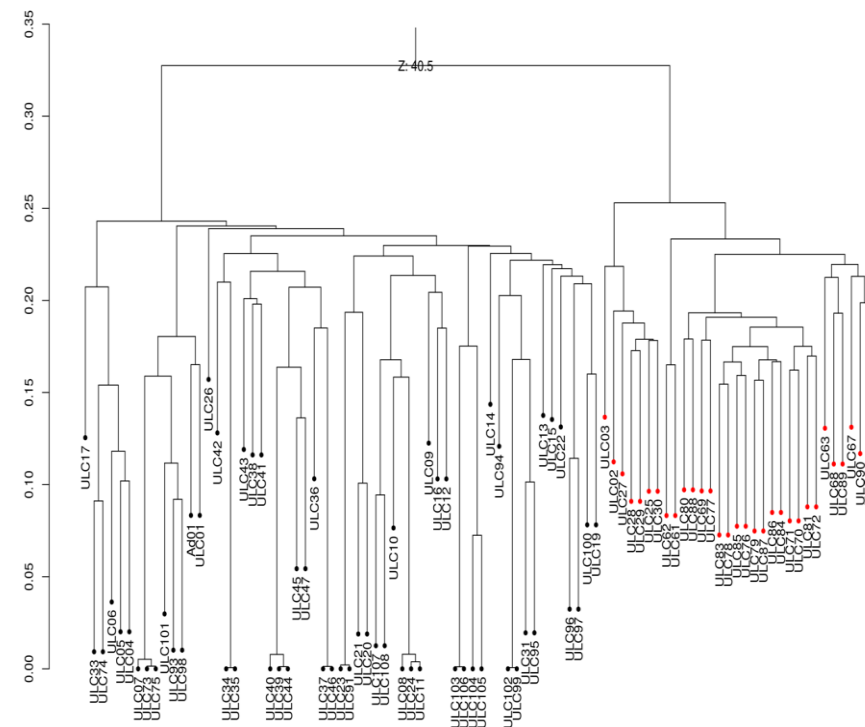


Figura 5. Dendrograma de distancia genética basado en la matriz de similitud del AIPE.



Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

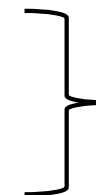
- OBJ4A1. Se presentó tres resúmenes de artículos científicos en el Congreso Nacional Forestal CONAFOR XIII, realizado en la ciudad de Tingo María, Huánuco, Perú, del 14 al 17 de noviembre 2018, denominados "Las Podocarpaceas del Norte, Centro y Sur del Territorio Peruano"; "Optimización de un Protocolo de Extracción y Purificación de ADN Genómico de la especie *Retrophyllum rospigliosii* (Ulcumano) para Estudios de Diversidad Genética con Marcadores RAPD" y "Eficiencia de Tratamientos en la Propagación Vegetativa de Ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii*) para la Restauración de Ecosistemas Forestales, San Ramón - Junín".
- OBJ4A2. Se presentaron a sumisión dos artículos a dos revistas científicas; el primer a la revista Peruana de Biología "Las Podocarpaceas del Norte, Centro y Sur del Territorio Peruano" y el segundo a la revista Ecología Aplicada "Propagación Vegetativa de Ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii* (Pilg) C. N. Page) en cámara de subirrigación, Chanchamayo, Perú", además se cuentan con borradores de artículos de "Relación del tamaño del plantón y la calidad de la planta de la especie *Retrophyllum rospigliosii* "Ulcumano" en condiciones de vivero, Anexo San Ramón, INIA, Junín, Perú", Identificación de marcadores SNPs en *Retrophyllum rospigliosii* (Pilg) C. N. Page) (Ulcumano) asociado al carácter Plus.

INDICADOR DEL OBJETIVO ESPECIFICO:

N° 4: “Difusión de resultados”

Artículos científicos:

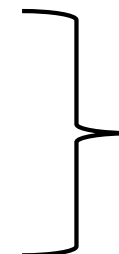
“Relación del tamaño del plantón y la calidad de la planta de la especie *Retrophyllum rospigliosii* "Ulcumano" en condiciones de vivero, Anexo San Ramón, INIA, Junín, Perú” Revista Forestal Venezolana – Vol 062 URI <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/46786>



Publicado

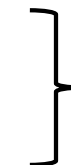
“Las podocarpáceas de los bosques montanos del norte, centro y sur del territorio peruano” Revista Peruana de Biología”

“Propagación vegetativa del ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii*) en cámara de subirrigación” Revista Ecología Aplicada”



Sumisión

“Identificación de marcadores SNPs en *Retrophyllum rospigliosii* (Pilg) C. N. Page) (Ulcumano) asociado al carácter Plus”.



Borrador

CONCLUSIONES

- El Proyecto contribuye a la oferta de conocimientos y alternativas tecnológicas sostenibles para la especie Ulcumano generadas por el INIA, para poner a disposición de los productores forestales que permita mayor competitividad en la obtención de productos para el mercado local y nacional, además es una base para trabajar con las otras especies forestales priorizadas a nivel nacional.
- Los resultados de indicadores a nivel de objetivos específicos, permitirían generar conocimiento y propuestas de alternativas tecnológicas sostenibles en el árbol ulcumano a nivel del territorio peruano.
- Con esta base genética que deja el proyecto Ulcumano, da pie a más investigaciones para la mejora genética de esta especie en particular, lo cual repercute en beneficios económicos para los reforestadores y material genético superior para los programas de reforestación nacional.

RECOMENDACIONES

- Si se utiliza el método de valoración individual, es necesario continuar con estudios moleculares para caracterizar al árbol como plus
- La genética de una especie es compleja, y no basta la certeza de realizar un solo secuenciamiento para determinar los marcadores asociados a los caracteres del que se está estudiando, es por ello que se tiene que trabajar a nivel de marcadores específicos.
- La capacitación del equipo técnico y logística previa es indispensable



Instituto Nacional de Innovación Agraria



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

EQUIPO TECNICO

- Evelin Judith Salazar Hinostrero (Investigador Responsable del Proyecto)
- Wilbert Edy Cruz Hilacondo (Investigador en biología molecular)
- José Eloy Cuellar Bautista (Asesor e Investigador Forestal)
- José Antonio Ramírez Peralta (Asistente en investigación, botánico)
- Juan Pablo More Ipanaque (Tesisista)
- Silvera Lizarbe Luz Meri (Asistente administrativa)
- Aguirre García Lhia Jacquelin (Asistente de campo, especialista Field-Map)
- Ccoicca Del Villar Esmir (Injertador)
- Nano Días Gabriel David (Asistente de campo)
- Lizana Rojas Sandy Brillith (Practicante)
- Cancán Loli Johan Deyvid (Asistente de laboratorio)
- Correa Meléndez Miriam Yanina (Asistente de laboratorio)
- Saldaña Serrano Carla Lizet (Asistente de laboratorio)
- Tone Condori Cristian Joel (Asistente en campo, colecta de muestras)

