

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis*  
“puchjuli” con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina  
y ácido naftalenacético, Ayacucho 2021.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGA, EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. GÓMEZ AYALA, Thalia Katy**

**ASESORA:**

**Mg. Paula GARCÍA GODOS ALCÁZAR**

**AYACUCHO – PERÚ**


**2023**


**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. Thalia Katy GÓMEZ AYALA**  
**R.D. N° 010-2023-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cinco de la tarde del veinte de enero del año dos mil veintitrés; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presidido por el Dr. Saúl Alonso CHUCHÓN MARTÍNEZ; Mg. Sonia Haydeé PALOMINO FELICES (Miembro - Jurado); Mg. Reynán CONDOR ALARCÓN (Miembro - 4to Jurado); Mg. Paula GARCÍA GODOS ALCAZAR (Miembro - Asesor), actuando como secretario docente el Mg. Percy COLOS GALINDO, para presenciar la sustentación de tesis titulada "**Introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* "pucchujuly" con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético, Ayacucho 2021**"; presentado por la Bach. Thalia Katy GÓMEZ AYALA; el Presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio al acto de sustentación, indicando al sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas al sustentante. Los miembros del jurado hacen la observación del nombre vulgar en el título de la tesis y determinan que "pucchujuly" debe ser cambiado por "puchjuli", quedando el título: "**Introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* "puchjuli" con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético, Ayacucho 2021**". Culminado esta etapa, el presidente invitó al sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación.


Miembros del jurado evaluador	Exposición	Respuesta a preguntas	Promedio
Mg. Sonia Haydeé PALOMINO FELICES	18	19	19
Mg. Reynán CONDOR ALARCÓN	18	18	18
		<b>Promedio final</b>	<b>19</b>


El sustentante alcanzó el promedio de 19 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso del sustentante y el público al Auditorio dando a conocer los resultados, e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis y treinta de la tarde; firmando al pie del presente en señal de conformidad.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Saúl Alonso CHUCHÓN MARTÍNEZ  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Sonia Haydeé PALOMINO FELICES  
Miembro - Jurado

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Paula GARCÍA GODOS ALCAZAR  
Miembro – Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Reynán CONDOR ALARCÓN  
Miembro – 4to Jurado

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Percy COLOS GALINDO  
Secretario - Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

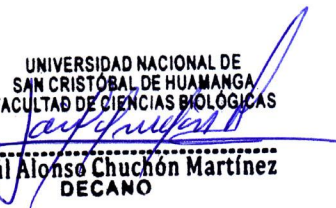
DECANATURA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS N° 04-  
2023-FCB-D

Yo, SAÚL ALONSO CHUCHÓN MARTÍNEZ, Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **“Introducción in vitro de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli” con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético, Ayacucho 2021”**, presentado por la Bach. THALIA KATY GÓMEZ AYALA; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 5%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-C.

En tal sentido, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 13 de febrero de 2023.

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
DECANO

Introducción in vitro de  
Corryocactus ayacuchoensis  
“puchjuli” con compuestos  
orgánicos, 6 bencilaminopurina  
y ácido naftalenacético,  
Ayacucho 2021.

*por* Thalia Katy Gómez Ayala

---

**Fecha de entrega:** 13-feb-2023 05:27p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2013475162

**Nombre del archivo:** GOMEZ-AYALA-THALIA-KATY-pregrado-TESIS-2022-TURNITIN.docx (17.61M)

**Total de palabras:** 10942

**Total de caracteres:** 57896

# Introducción in vitro de *Corryocactus ayacuchoensis* "puchjuli" con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético, Ayacucho 2021.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

INDICE DE SIMILITUD

4%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://repositorio.unap.edu.pe">repositorio.unap.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
2	<a href="https://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="https://worldwidescience.org">worldwidescience.org</a> Fuente de Internet	<1%
4	<a href="https://qdoc.tips">qdoc.tips</a> Fuente de Internet	<1%
5	<a href="https://doczz.net">doczz.net</a> Fuente de Internet	<1%
6	<a href="https://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1%
7	Submitted to Universidad de Costa Rica Trabajo del estudiante	<1%
8	<a href="https://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	<1%

9

# Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

<1 %

---

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo

A mis padres Nemesio y Aurea por su gran apoyo y por enseñarme los valores de alcanzar grandes metas.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi Alma Mater, por brindarme la oportunidad de recibir mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas por la oportunidad de completar mis estudios y construir una carrera en el campo de la biología.

A la especialidad de Biotecnología de la Escuela Profesional de Biología, por brindarme los equipos necesarios para materialización de la presente investigación.

A mi asesora, Mg. Paula García Godos Alcázar por su orientación y apoyo para la concretización de la investigación.

Al Mg. Reynán Cóndor Alarcón por el apoyo en el procesamiento estadístico del estudio.

A todas las personas que con su invaluable apoyo contribuyeron en la materialización de la investigación.



## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	5
2.3. Cultivo de tejidos vegetales	5
2.4. Micropropagación	6
2.4.1. Fases de la micropropagación	6
2.5. Factores	6
2.5.1. Planta donante	6
2.5.2. Tipo de explante	7
2.5.3. Genotipo	7
2.5.4. Condiciones del ambiente	7
2.5.5. Medio Murashigue y Skoog (MS)	8
2.5.6. Fitohormonas	8
2.5.7. Compuestos orgánicos	11
2.5.8. Otros	11
2.6. Morfogénesis in vitro	12
2.6.1. Organogénesis directa	12
2.6.2. Organogénesis indirecta	12
2.7. Cactáceas del Perú	12
2.8. Cactáceas endémicas de Ayacucho	13
2.8.1. Origen y distribución	14
2.8.2. Morfología	14
2.9. <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”	15
2.9.1. Clasificación taxonómica	15
2.9.2. Formas de reproducción de cactáceas	16
2.9.3. Importancia	16

III.	MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1.	Ubicación del lugar de estudio	17
3.2.	Recolección de material vegetal	17
3.3.	Obtención del material vegetal	17
3.4.	Estandarización del protocolo de desinfección	17
3.5.	Germinación de semillas	19
3.6.	Optimización del medio de cultivo	20
3.7.	Aclimatación de las plántulas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i>	21
3.8.	Análisis estadístico	22
IV.	RESULTADOS	23
V.	DISCUSIÓN	39
VI.	CONCLUSIONES	47
VII.	RECOMENDACIONES	49
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
	ANEXOS	59

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Fitohormonas utilizadas en el cultivo de tejidos vegetales y sus efectos.	9
Tabla 2. Protocolo de desinfección para explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, cultivadas en medio Murashigue y Skoog, en el laboratorio de Biotecnología en el mes de noviembre de 2021.	19
Tabla 3. Protocolo de obtención de areolas a partir de semillas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, cultivadas en medio Murashigue y Skoog; en el laboratorio de Biotecnología en el mes de noviembre a diciembre de 2021.	20
Tabla 4. Tratamiento en la introducción <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli” en medio Murashigue Skoog suplementado con bencilaminopurina (BAP) y ácido 1-naftalenacético (ANA), en el laboratorio de Biotecnología en el mes de diciembre de 2021 a febrero de 2022.	20
Tabla 5. Tratamiento en la introducción <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli” en medio Murashigue Skoog suplementado con compuestos orgánicos, en el laboratorio de Biotecnología en el mes de diciembre de 2021 a febrero de 2022.	21
Tabla 6. Aclimatación de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli” con diferentes proporciones de agrolita, musgo y compost, en los laboratorios de Biotecnología en el mes de marzo a mayo de 2022.	21

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Planta de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, Ayacucho septiembre de 2021.	16
Figura 2. Contaminación de los explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, en relación a los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.	25
Figura 3. Oxidación de los explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, en relación al tiempo y la concentración de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.	26
Figura 4. Viabilidad de los explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, en relación al tiempo y la concentración de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.	27
Figura 5. Contaminación de los explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, en relación del tipo de explante, los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.	28
Figura 6. Oxidación de los explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, en relación del tipo de explante, los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.	29
Figura 7. Viabilidad de los explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, en relación del tipo de explante, los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.	30
Figura 8. Germinación de semillas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i>	31

“puchjuli”, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, diciembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

- Figura 9. Número de brote por explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes. 32
- Figura 10. Tamaño de brote por explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes. 33
- Figura 11. Plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, A. En brotación y B. Crecimiento del tallo, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. 34
- Figura 12. Número de raíces por explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes. 35
- Figura 13. Longitud de raíces de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes. 36
- Figura 14. Plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, A y B. Enraizamiento, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. 37
- Figura 15. Supervivencia de las plantas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 50 días de aclimatación. Ayacucho, mayo de 2022. Prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes. 38

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Constancia de identificación de la especie <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”. Ayacucho – 2022.	61
Anexo 2. Componentes de los stocks en la formulación del medio Murashigue y Skoog. Ayacucho – 2021.	62
Anexo 3. Componentes para litro de medio Murashige y Skoog. Ayacucho-2021.	63
Anexo 4. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de contaminación de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 7 días de introducción. Ayacucho - 2021.	64
Anexo 5. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de oxidación de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 7 días de introducción. Ayacucho - 2021.	65
Anexo 6. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de viabilidad de explantes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 7 días de introducción. Ayacucho – 2021.	66
Anexo 7. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de germinación de semillas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2021.	67
Anexo 8. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable número de brotes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.	68
Anexo 9. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable tamaño de brotes de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.	69
Anexo 10. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable número de raíces de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.	70
Anexo 11. Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable longitud de raíces de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.	71

Anexo 12.	Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de supervivencia de las plántulas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 50 días de aclimatación. Ayacucho – 2022.	72
Anexo 13.	Flujograma del procedimiento de la introducción <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”. Ayacucho – 2022.	73
Anexo 14.	Planta madre de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, en el distrito de Pacaycasa, departamento de Ayacucho. Ayacucho – 2021.	74
Anexo 15.	Material vegetal de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli” (areolas y semillas), seleccionadas para la introducción <i>in vitro</i> . Ayacucho – 2021.	75
Anexo 16.	Plántulas <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2021.	76
Anexo 17.	Plántulas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, listas para ser colocadas en el sustrato para la etapa de la aclimatación. Ayacucho – 2022.	77
Anexo 18.	Plantas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, a los 50 días de aclimatación. Ayacucho – 2022.	78
Anexo 19.	Matriz de consistencia.	79

## RESUMEN

La investigación se realizó con el objetivo de introducir *in vitro* *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli” usando compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA), para lo cual se estableció el protocolo de desinfección, se determinó el medio de cultivo adecuado y evaluó el crecimiento *in vitro*, para posteriormente ser aclimatadas en diferentes sustratos. Los explantes se obtuvieron de ejemplares silvestres del distrito de Pacaycasa, departamento de Ayacucho. En la desinfección de semillas y areolas se utilizó NaClO al 2,5%, 3% y 3,5% durante 15, 20 y 30 minutos de inmersión; las areolas fueron previamente sumergidas en 1,0 g/L de Benomyl con la finalidad de reducir contaminación por hongos al cultivarlas en el medio de cultivo. Para obtener las areolas se germinó las semillas en medio Murashigue y Skoog que fueron previamente incubadas a 28 °C, 23 °C y a temperatura ambiental (21°C) durante 96 horas. Para encontrar el medio de cultivo óptimo, se sembraron las areolas en medio Murashigue y Skoog suplementados al 10% de compuestos orgánicos (agua de coco, jugo de tomate, jugo de plátano y jugo de piña), bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) en concentraciones variables más carbón activado 2,0 g/L. En la aclimatación se sembró las plántulas *in vitro* en diferentes sustratos como agrolita, musgo y compost. En la desinfección el tratamiento óptimo fue con NaClO al 3,5% durante 20 minutos de inmersión reportó 100% y 67,7% de viabilidad de semillas y areolas respectivamente. El tratamiento con mayor porcentaje de germinación reportó un 63,7% a una previa incubación a 28°C durante 96 horas. El medio de cultivo óptimo se obtuvo con 2,0 mg/L de BAP + 0,25 mg/L de ANA obteniendo 2,58 brotes por explante con una altura de 0,86 cm, en cambio con 10% de jugo de piña se obtuvo 2,25 brotes por explante con una altura de 0,66 cm observando el crecimiento de las raíces a los 14 días de introducción. El mayor porcentaje de supervivencia en la aclimatación fue de 96% en el sustrato de compost + agrolita (1:1). Es necesario restaurar las poblaciones silvestres y fomentar el aprovechamiento comercial por lo que con este protocolo permitirá introducir y micropropagar a esta especie en vía de extinción.

**Palabras clave:** *Corryocactus ayacuchoensis*, compuestos orgánicos, micropropagación, bencilaminopurina y ácido naftalenacético.



## I. INTRODUCCIÓN

El Perú es considerado como país megadiverso junto a México, China, Colombia e India debido a que en conjunto reúnen el 70% de la biodiversidad del planeta (Rodríguez et al., 2019). Las cactáceas son parte de la flora nacional con especies endémicas y en peligro de extinción, originarias del continente americano, muchas de las especies están al sur del Perú, parte del patrimonio natural de la humanidad (Ostolaza, 2012), con quince géneros y treintainueve especies (Ostolaza, 2015). La provincia de Huamanga posee dieciséis especies de cactáceas y seis son endémicas (De la Cruz et al., 2020), con estado de conservación en peligro (EN) a vulnerable (VU) (Huamani et al., 2020).

*Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, cactácea endémica (Huamani, 2015) catalogada especie en Peligro-EN (MINAM, 2018), se utiliza como especie ornamental, como protección de cercos y los lugareños consumen sus frutos ácidos por el alto contenido de vitamina C (Ayala & Ayala, 2021), además contiene almidones, azúcares reductores, alcaloides, monosacáridos, compuestos fenólicos, saponinas, taninos, cumarinas, triterpenos y flavonoides justificando la utilización en la alimentación, en la salud y como combustible (Atausupa, 2019).

Los cactus son apreciados como ornamentales por su diversidad y sus flores; sin embargo, debido a su dificultad de propagación para satisfacer la demanda del mercado, muy a menudo son recolectadas en exceso de sus hábitats naturales, llevándoles a ser amenazadas (Villanueva, 2016), además de su crecimiento lento para llegar a una planta adulta es necesario muchos años (Young, 2007; Ramos-López, 2007), sumados a su bajo porcentaje de semillas germinadas y supervivencia de las plántulas a condiciones extremas como ausencia de lluvias, las altas temperaturas, escasas de agua en el subsuelo y la presencia de depredadores (Ostolaza, 2012), este fenómeno se agrava más por su alto

endemismo y constante degradado de su hábitat con perturbación natural y antropogénica (Sarabia et al., 2016), orientándonos a nuevas alternativas biotecnológicas de multiplicación como el cultivo de tejidos vegetales (Sánchez, 2022).

La propagación masiva en cactáceas mexicanas amenazadas es un logro exitoso (Montiel-Frausto et al., 2016), mediante la regeneración a través de las areolas por inducción hormonal de tipo citoquininas y auxinas solas o combinadas (Lema & Kulus, 2014), la areola es una característica propia de las cactáceas y es considerada yema axilar por generar brotes, ramas, espinas, tricomas y flores (Pérez et al., 2015), sin embargo, se ha observado que cada especie o subespecie responde de manera diferente en condiciones *in vitro*, siendo necesario desarrollar sistemas de micropropagación (De la Rosa et al., 2012).

Los objetivos que se plantearon en la investigación fueron:

**Objetivo general**

Introducir *in vitro* *Corryocactus ayacuchoensis* con compuestos orgánicos, 6-bencilaminopurina y ácido naftalenacético.

**Objetivos específicos**

1. Establecer el protocolo de desinfección utilizando diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio.
2. Optimizar el medio de cultivo para la introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis*.
3. Evaluar el crecimiento *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis*.
4. Aclimatar en diferentes sustratos plántulas *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis*.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

En la investigación de Tellez et al. (2020), en la regeneración *in vitro* de segmentos areolares de *Echinopsis chamaecereus*, sembradas en medio Murashigue y Skoog suplementado con bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalacetico (ANA), obtuvo mejores resultados con 13,2 mM de BAP + 5,3 mM de ANA con un promedio 12,6 brotes por explante.

En el estudio de Villavicencio et al. (2020) estableció el protocolo de regeneración de *Echinocereus posegeri*, previa germinación *in vitro* de semillas obteniendo areolas para ser sembradas en medio Murashigue y Skoog al 50% de micronutrientes suplementado con diferentes combinaciones de bencilaminopurina (BAP), kinetina (KIN), ácido indolbutírico (IBA) y ácido naftalacetico (ANA), reportó mejores resultados con 0,75 mg/L de IBA + 7,50 mg/L de KIN fue de 3,73 brotes por explante y 5,05 cm de altura.

En la investigación de Vargas (2020) estableció el protocolo de multiplicación a partir de plántulas de pitahaya roja *Hylocereus undatus*, que fueron micropropagadas en medio Murashigue y Skoog suplementado con diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) y ácido indolacético (AIA), obteniendo mejores resultados con 2,0 ppm BAP + 0,5 ppm AIA fue de 4,67 brotes por explante, 5,23 cm de altura y 6,63 cm longitud de raíz.

En el estudio de Huanca (2019) en la propagación *in vitro* de *Neowerdermannia chilensis* a partir del tejido areolar, reportó mejores resultados en medio Murashigue y Skoog suplementado con 1,0 mg/L de ANA + 2,0 mg/L de BAP y 1,0 mg/L de ANA + 1,0 mg/L de BAP fue de 7,67 brotes por callo.

En la investigación de Retes et al. (2017) en la propagación *in vitro* de los géneros Polaskia, Mammillaria, Echinocereus, Melocactus y Escontria, previa germinación *in vitro* de semillas obteniendo areolas para ser sembradas en

medio Murashigue y Skoog suplementado con 3% de sacarosa, 10,0 g/L de agar, bencilaminopurina (BAP) o dimetilalilamino (ZIP), reportando mejores resultados con *Mammillaria carmenae* fue de 13,5 brotes por explante y en *Echinocereus schmollii* fue de 6,0 brotes por explante, para el enraizamiento se complementó con ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB) más carbón activado (CA) y en la etapa de aclimatación reportó entre 49 a 98% de supervivencia.

En el estudio de Sarabia et al. (2016) en la regeneración *in vitro* de *Turbincarpus gielsdorfianus* a partir del tejido areolar en el medio Murashigue y Skoog basal con tres diferentes citocininas: dimetilalilamino (Zip), kinetina (KN) y bencilaminopurina (BA), reportó mejores resultados con 6,0 mg/L BA fue de 3,1 brotes por explante, seguido con 2,0 mg/L Zip fue de 3,0 brotes por explante, concluyendo de las citocinas influyen en la dormancia de yemas.

En la investigación de Guevara et al. (2013) en la propagación de *Corryocactus pulquinensis*, *Cleistocactus candelilla* y *Echinopsis huotii* en condiciones controlas a partir de yemas apicales sembrados en medio Murashige y Skoog suplementado con 3,0 ml/L bencil aminopurina (BAP), 1,0 g/L carbón activado, 300,0 mg/L ácido cítrico, 30,0 g/L sacarosa y 7,0 g/L agar, reportó un 25% de supervivencia de brotes en la especie *Corryocactus pulquinensis*.

En el estudio de Patricia et al. (2013) en la propagación de *Mammillaria schiedeana schiedeana*, por activación areolar a condiciones controladas, sembrados en medio Murashige y Skoog suplementado con bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalacetico (ANA), obtuvo mejores resultados con 0,1 mg/L de ANA y 0,5 mg/L de BAP en producción de brotes.

En la investigación de Rodríguez et al. (2013) estableció una metodología de propagación *in vitro* de *Escobaria cubensis*, previa germinación *in vitro* de semillas obteniendo areolas para ser sembradas en medio Murashige y Skoog suplementado con ácido naftalacetico (ANA) y bencilaminopurina (BAP), reportó mejores resultados con 5,4 µM ANA + 13,3 µM BAP fue de 5,1 brotes por explante, y en la etapa de aclimatación reportó 93,5% de supervivencia con zeolita + lecho de bambú + suelo.

En el estudio de Rocha (2013) estableció y propagó *in vitro* *Aporocactus flagelliformis*, utilizando como explante el domo apical central del tallo con cortes transversales de tamaño de 1,0 cm sin espinas, el desinfectante que utilizó fue el yodo más antifúngico Benomyl 1,5 g/L más 2 % de dicloruro de plata (HgCl<sub>2</sub>) durante 20 minutos de inmersión, reportando mejores resultados en medio

Murashige y Skoog suplementado con 1,0 ml/L ANA + 3,0 ml/L BAP más 3,0 g/L de carbón activado.

## **2.2. Marco conceptual**

Areola: Es una yema axilar modificada, una estructura exclusiva de las cactáceas, donde aparecen las flores, espinas, frutos, hojas, ramas y pelos (Ostolozza, 2012).

Ácido naftalenacético: Fitohormona de tipo auxínica que promueve la dominancia apical, formación de raíces adventicias e inhibe las formación de yemas axilares (Ruíz & Ayala, 2012).

Agrolita: Sustrato inerte proveniente de una roca volcánica que pasa por un proceso de temperaturas altas, cuya propiedad es la porosidad y por su contenido nutrimental utilizado en cocinas gourmet para la producción de microgreens (Di Gioia et al. 2017).

Bencilaminopurina: Fitohormona de tipo citoquinina que promueve la división celular, la formación de yemas axilares y órganos (Ruíz & Ayala, 2012).

Compost: Resultado de la descomposición de materia orgánica por microorganismos aerobios, que aporta nutrientes, aireación y retención de agua (O'Ryan & Riffo, 2007).

Musgo: Principalmente se utiliza el musgo *Sphagnum* por sus propiedades de porosidad, drenaje y retención de humedad (Solís-Zanotelli et al., 2022)

Supervivencia: Es la evaluación en porcentaje de supervivencia los 50 días después del trasplante en condiciones de vivero (López, 2021).

## **2.3. Cultivo de tejidos vegetales**

Conjunto de técnicas de cultivo aséptico de composición nutritiva definida en condiciones controladas de tejidos, células, semillas y protoplastos para obtener plántulas completas (Romero, 2007), a partir de la totipotencia celular, habilidad de la célula de expresar el genoma completo a través de la división celular (Thorpe, 2007). Actualmente el avance de la ciencia ha permitido conocer los factores fisicoquímicos, el requerimiento nutricional para el desarrollo y crecimiento de la planta (Castillo, 2004), y obtener sistemas de propagación clonal e introducción de especies difíciles de propagar, plantas sin virus y bancos de germoplasma (Murch & Saxena, 2004).

Actualmente en especies amenazadas son atractivas debido su reducido material de partida requerido y las altas tasas de multiplicación. Además, son muy importantes por su capacidad de mantener la integridad genética del

material vegetal (Quiala et al., 2004), utilizadas en la agricultura en la conservación de recursos fitogenéticos de forma extensiva, en vías de extinción siendo atractivas en un amplio número de especies (Feijóo et al., 2000).

No obstante, la propagación por vía tradicional tiene desventaja como sus bajas tasas de multiplicación y el tiempo de obtención de nuevas plántulas hasta su reintroducción dificultan la disponibilidad de cantidades grandes de plántulas, alargando los programas de restauración ecológica (Clemente & Fay, 1997).

## **2.4. Micropropagación**

Propagación *in vitro* de las plántulas con la misma carga genética (clones) que se obtiene del tejido de la planta donadora (Castillo, 2004).

Presenta importantes ventajas: incremento exponencial de material vegetal; control de factores (humedad, luz y temperatura), estudios fisiológicos, libre de patógenos, multiplicación masiva en espacios limitados, individuos genéticamente idénticos y de fácil transporte (Borja, 2016).

### **2.4.1. Fases de la micropropagación**

El proceso de micropropagación consta de cinco fases (Muñoz, 1999):

**Fase 0:** Selección y preparación del material vegetal, deben estar en óptimas condiciones sanitarias y fisiológicas.

**Fase 1:** Establecimiento *in vitro*, cuando los explantes iniciales fueron introducidos al medio de cultivo a condiciones estériles y estos fueron previamente sometidos a un proceso de desinfección.

**Fase 2:** Proliferación, tiene lugar en las yemas axilares del tallo en desarrollo o por la inducción de yemas adventicias.

**Fase 3:** Elongación del tallo y enraizamiento, tiene como objetivo producir plantas autótrofas capaces de sobrevivir al trasplante en el suelo.

**Fase 4:** Aclimatización de condiciones *in vitro* a condiciones *ex vitro*, es la exposición gradual de las vitroplantas a condiciones controladas de temperatura, luz y humedad.

## **2.5. Factores**

### **2.5.1. Planta donante**

El estado fisiológico y el estado físico de la planta donante afecta la ruta morfogénica del explante con un requerimiento nutricional y hormonal en el medio de cultivo para su establecimiento a condiciones *in vitro*, cuanto más joven y presente tejidos menos diferenciados será mejor la respuesta *in vitro*, por ello el meristemo apical y axilar son los más usados (Villalobos & Thorpe, 1991).

### **2.5.2. Tipo de explante**

Es cualquier parte vegetal constituidos por tejidos o células somáticas con excepción del polen y el óvulo, es importante considerar su tamaño, origen, edad fisiológica y la asepsia del explante para el éxito de las técnicas de cultivo de tejidos vegetales (Ramos, 2012) ya que existe mayor probabilidad de cuanto más grande sea el explante de inducir la callogénesis u organogénesis. Sin embargo, es probable que los cultivos estén contaminados con microorganismos, y los explantes muy pequeños a menudo requieren de medios más complejos o de medios acondicionados, según la especie y del material vegetal (Levitus et al., 2010).

### **2.5.3. Genotipo**

El genotipo determina la diferenciación *in vitro* de órganos o la proliferación del callo, que influye en el balance hormonal y el requerimiento nutricional del medio de cultivo. Por ello, es mejor individualizar la formulación del medio para cada especie (Levitus et al., 2010).

### **2.5.4. Condiciones del ambiente**

Las condiciones que interfieren son la temperatura, humedad relativa y la luz, es importante señalar que en la mayoría de los casos las respuestas obtenidas son mayores a medida que se acercan a las condiciones óptimas de crecimiento para las especies estudiadas (Levitus et al., 2010), en especies de cactáceas la temperatura óptima es de 24 a 28°C (Villalobos & Thorpe, 1991) entre un rango de 3 a 4°C de las condiciones *in vivo*, también se recomienda temperaturas inferiores en procesos de ruptura de dormancia, formación de primordios florales y germinación de semilla (Pierk, 1987). La humedad relativa depende del sello o la tapa del recipiente, si es hermético la humedad interna se encuentra en un promedio de 98 a 99,5% y aproximadamente un 70% en la cámara de crecimiento (Pierk, 1987), sin embargo, se recomienda evitar la hipoxia al haber un limitado suministro de oxígeno que llega a afectar el crecimiento de los tejidos (George y Davies, 2010). La fuente luminosa es importante al estar compuesta por lámparas de tipo luz de día como los fluorescentes e incandescentes (1000 a 4000 lux ), que proporciona un fotoperíodo y escotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (Roca & Mroginski, 1991), el suministro de luz es un elemento principal que estimula la diferenciación de órganos y la oscuridad estimula la callogénesis (Levitus et al., 2010).

### **2.5.5. Medio Murashigue y Skoog (MS)**

Medio de cultivo más empleado en la organogénesis, callogénesis y embriogénesis en la mayoría de especies (Levitus et al., 2010), compuesto de una fuente de carbono, vitaminas, aminoácidos, macronutrientes y micronutrientes (García et al., 2012). La ruta morfogénica que siguen los explantes están reguladas por la composición del medio y la adición de fitoreguladores (Vyas et al., 2009), la proporción de hormonas vegetales de los explantes y el medio de cultivo, pueden inducir la ruta morfogenética aun si la concentración mineral sea baja e inadecuada, pueden aumentar significativamente la diferenciación de órganos en condiciones óptimas (Levitus et al., 2010), ejemplos como el agregado de fitohormonas de tipo auxina en la *Tilia spp.* o citocinina como el thidiazurón en el *Codiaeum variegatum* (Huetteman & Preece, 1994).

Las hormonas de tipo auxina y citoquinina son costosas para regular el crecimiento y desarrollo del tejido vegetal, por lo que están investigado sustitutos de orígenes naturales con fuentes de minerales, aminoácidos, vitaminas y azúcares como son los compuestos orgánicos (García et al., 2012).

### **2.5.6. Fitohormonas**

Son biorreguladores que afectan procesos metabólicos sintetizados en células vegetales sin formar glándulas y ejercen efectos fisiológicos a muy bajas concentraciones entre  $10^{-9}$  M a  $10^{-6}$  M (Izumi et al., 2009), no son nutrientes, ya que solo afectan el estado hormonal de la planta (Rademacher, 2017), formación de raíces, floración, germinación de semillas, tolerancia a varios tipos de estrés bióticos y abióticos, movimientos trópicos, maduración del fruto, envejecimiento de las hojas, etc., involucrados en el patrón de expresión génica del ciclo de vida de una planta (McCourt, 1999). Clasificadas según su estructura y funciones fisiológicas, son citoquininas (CK), auxinas, giberelinas (GA), brasinosteroides, ácido abscísico (ABA), jasmonatos (JA), etileno, ácido salicílico (SA) y poliaminas (Kamiya, 2010), la concentraciones de las fitohormonas deben optimizarse individualmente para cada genotipo y especie (Levitus et al., 2010).



**Tabla 1.** Fitohormonas utilizadas en el cultivo de tejidos vegetales y sus efectos.

<b>Fitohormonas</b>	<b>Siglas</b>	<b>Nombre</b>	<b>Efectos</b>
<b>Auxinas</b>	AIB	Ac. indol 3-butírico	Formar las raíces adventicias
	ANA	Ac. Naftalenacético	y brotes adventicios
	APA	Ac. Fenilacético	Embriogénesis somáticas (embrioides)
	ACP	Ac. Clorofenoxiacético	División celular
	AIA	Ac. 3 indolacético	Callogénesis
	2,4,5T	Ac. 2,4,5 triclofenoxiacético	Inhibe la formación de yemas axilares y raíz.
	2,4-D	Ac. 2,4 Diclorofenoxiacético	
<b>Citocininas</b>	Z	Zeatina	Inhibe el crecimiento del tallo
	ZR	Ribosido de Zeatina	Senescencia y formación de raíces
	KIN	6 furfurilaminopurina	División celular
	I P	Isopenteniladenina	Callogénesis.
	BAP	6 bencilaminopurina	Formar las yemas axilares
	IPA	Isopenteniladenosina	
	CPPU	N(2-cloro-4piridil) N-fenil urea	
TDZ	Thidiazurón		
<b>Giberelinas</b>	GA <sub>3</sub>	Ac. Giberélico Giberelinas	Rompe la latencia en semillas, yemas apicales, bulbo y embriones somáticos.
	GA <sub>1</sub>		Elongación del tallo
	GA <sub>4</sub>		Regula la formación de bulbo, cormo y tubérculo.
	GA <sub>7</sub>		Inhibe la formación de raíces adventicias
<b>Etileno</b>	----	-----	Promueve el envejecimiento de hojas y maduración del fruto. Promueve o inhibe la regeneración adventicia en dependencia del genotipo o tiempo de aplicación.
<b>Ácido abscísico</b>	ABA	-----	Maduración de embriones somáticos Promueve la dormancia Formar los bulbos y tubérculos Facilita la aclimatación

Fuente: (Ruíz & Ayala, 2012).

### **a) Auxinas**

Las auxinas son derivados del triptófano, que regulan la división celular, dominancia apical, diferenciación celular, expansión celular, forma las raíces adventicias, floración y el tropismo (Mashiguchi et al., 2011), se presenta en áreas de crecimiento como en las hojas jóvenes, meristemos apicales y los frutos en crecimiento, se encuentran en su forma natural como ácido indolacético

(IAA), ácido indolbutírico (AIB), ácido indol butírico (IBA), ácido 4 cloroindolacético (4-ClIAA), ácido fenilacético (PAA) y el ácido indol propiónico (IPA), altamente activo a concentraciones nanomolares en bioensayos (Jordan & Casaretto, 2006). Hay auxinas sintéticas como el picloram, ácido naftalenacético (NAA) y el ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) (Mora, 2021).

En el cultivo de tejidos, IBA y ANA se utilizan con mayor frecuencia en la embriogénesis y la organogénesis. El picloram y el ácido 2,4 diclorofenoxiacético son los más efectivos y por lo tanto utilizados para la inducción de tejido embriogénico, mientras que el AIA es el menos utilizado por que se degrada enzimáticamente (Suárez, 2020).

### **b) Citocininas**

Estas son adeninas con sustituciones en la posición N6 (Santner et al., 2009), que inicia la división celular, desencadenan el inicio de la brotación, la organogénesis, la androgénesis, activan las yemas laterales, retardan la senescencia y aumentan la demanda de transporte de la sabia elaborada en el floema (Jordan & Casaretto, 2006). Se sintetizan principalmente en el meristema apical y generalmente se transportan a su base (transporte basal), siendo la zeatina (Z) la citocinina más importante, seguida de la isopenteniladenina (IPA), siendo el menos abundante (Bidwell, 1992), también se sintetizan en la raíz y en las semillas inmaduras (Kakimoto, 2003).

Se pueden distinguir dos tipos de citocininas según su origen: de origen natural y sintéticas, las de origen natural son generadas a partir de la ruta del mevalonato a partir del dimetilalil pirofosfato (DMAPP) y adenosina 5' monofosfato (5'-AMP) generando la zeatina, trans-zeatina o 2-isopentenil adenina (2iP), y las sintéticas producidas en laboratorio como el tidiazurón (TDZ), la kinetina (KIN) y bencilaminopurina (BAP) (Jordan & Casaretto, 2006), las citoquinas sintéticas son los inductores más potentes que las hormonas endógenas naturales, por la dificultad de ser degradadas o metabolizadas por el tejido, como el tidiazurón induce la embriogénesis somáticos y formación de nuevos brotes tanto en plantas herbáceas como leñosas (Huetteman & Preece, 1994).

El 2-isopentenil adenina (2iP) y la zeatina son sintetizadas naturalmente en la planta, pero existe alternativas comerciales como la kinetina, el tidiazurón (TDZ) y bencilaminopurina (BAP) (Suárez, 2020), especialmente para la proliferación meristemática establecida, embriogénesis y organogénesis (Acosta, 2013).

### **2.5.7. Compuestos orgánicos**

Los compuestos orgánicos favorecen la organogénesis y contribuyen en la reducción de costos (Velázquez et al., 2016), el más utilizado es el agua de coco en especies de orquídeas por el aumento en la proliferación de cuerpos similares a protocormos (PLBs), por tanto, la adición de compuestos orgánicos al medio de cultivo favorece la formación y la elongación de brotes a partir de protocormos como en la *Vainilla planifolia*, al tener los nutrientes necesarios para su desarrollo (Carranza et al., 2021) como la peptona, homogeneizado de plátano o papa, jugo o extracto de levadura que promueven el desarrollo de los brotes por su fuente de hormonas de crecimiento, carbohidratos, ácidos grasos, vitaminas, aminoácidos y péptidos (Huan et al., 2004; Richter et al., 2005; Santoso et al., 1996).

Además, sustratos orgánicos como el jugo de piña, agua de coco y jugo de plátano promueven la morfogénesis debido a que tiene efecto similar a las citocininas y auxinas (Menezes et al., 2016), por su composición que aporta niveles altos de potasio, hierro y vitaminas B6 y B12 (Gnasekaran et al., 2010). El agua de coco en medios de cultivos ha sido el interés de muchas investigaciones porque afecta el crecimiento del tejido vegetal (Suárez, 2020), mostrando inicialmente efectos sobre la proliferación y crecimiento celular (Skoog & Tsui, 1948), otros estudios han demostrado que la adición de extracto de piña al medio induce a un mayor crecimiento y germinación de plántulas en la especie *Prosthechea vespa* (Salazar & Cancino, 2012). Como también se aisló la kinetina de un extracto de levadura resistente a la esterilización a altas temperaturas (Miller et al., 1955).

### **2.5.8. Otros**

Otros factores que influyen sobre los explantes son el agente gelificante utilizados en el medio de cultivo (Sansberro et al., 2001) y la época del año durante la introducción *in vitro* (Correa et al., 2006). Investigaciones concluyen que el establecimiento de explantes de la yerba mate no se ve afectado por el tipo de agente gelificante, pero si tiene efecto en el número de brotes regenerados, así como en su enraizamiento, siendo el más recomendado Phytigel (Sansberro et al., 2001). Por otra parte, destacan que la mayor tasa de sobrevivencia se presenta en invierno, lo que indica un bajo nivel de contaminación por bacteria (Correa et al., 2006).

## **2.6. Morfogénesis *in vitro***

### **2.6.1. Organogénesis directa**

Es la formación directa del brotes adventicios o yemas a partir de cualquier tejido de la planta (Cárdenas, 2021), a través de un meristemoide, que consiste en el crecimiento de un brote y la elongación del tallo con alto grado de juvenilidad y células con bajo grado de diferenciación (baja determinación y alta competencia), reaccionando al contacto con el medio de cultivo, que suelen contener citocininas, iniciando la vía morfogenética (Suárez, 2020), y adicionalmente requiere de hormonas de tipo auxinas para la formación de órganos (Perea, 2009).

### **2.6.2. Organogénesis indirecta**

Ocurre cuando los meristemoides, a partir de los cuales crecen nuevos brotes, surgen de la capa de callo que crecen del explante (Suárez & Salgado, 2008), un grupo de células desorganizadas que aún están en proceso de diferenciación (Cárdenas, 2021), necesitando de hormonas de tipo citoquina en el medio de cultivo (Perea, 2009).

## **2.7. Cactáceas del Perú**

Las cactáceas peruanas son parte de la flora de la diversidad biológica del Perú con muchas especies endémicas o en peligro, originarias del continente americano, muchas de las especies están al sur del Perú, parte del patrimonio natural de la humanidad (Ostoloza, 2012).

Se estima que existen unos 86 géneros y unas 2000 especies a nivel mundial (Hoffmann & Walter, 2004; Trevizan & Baltierra, 2018). Con 250 especies en 43 géneros del Perú (Clements et al., 1994; Ulloa et al., 2004), además de Perú, México, Argentina, Bolivia, Chile y Costa Rica son los países con mayor número de especies endémicas (Rivas, 1998).

En Perú, las familias de Cactáceas son principalmente arbustivas y columnares, tales como: *Calymnanthium*, *Lasiocereus*, *Matucana*, *Mila*, *Oroya* y *Pygmaeocereus* (Arakaki et al., 2006).

Los cactus se valoran principalmente como plantas ornamentales debido a su gran variedad, diferentes formas y hermosas flores de corta duración; sin embargo, debido a las dificultades para propagarlos rápidamente para satisfacer la demanda del mercado, a menudo se extraen de sus hábitats naturales y muchas especies están amenazadas o en peligro de extinción (Anderso, 2001). Este fenómeno se debe a que muchas especies tienen un área de distribución

muy limitada (endemismo) y su hábitat se degrada continuamente (Sarabia et al., 2016).

## **2.8. Cactáceas endémicas de Ayacucho**

En las cactáceas está asociado al mayor porcentaje de endemismo, de igual forma, el estado de conservación se clasifica en solo el 76% de los 4197 taxones, y un 33% corresponden a especies en peligro (EN), un 18% corresponden a peligro crítico (CR) y finalmente, un 24% son considerados como deficiente en datos (DD) (Huamani, 2015).

Localmente se han registrado diez géneros con 20 especies con mayor abundancia en formaciones xerofíticas y rocosas en el hábitat estepa espinosa-Montano Bajo Subtropical (ee-MBS) en los distritos de Pacaycasa, San Juan Bautista y Ayacucho (Magallanes, 1999; Huamani, 2015).

En la provincia de Huamanga se determinó la diversidad, distribución y uso, se identificaron 16 especies y seis son endémicas: *Corryocactus quadrangularis* y *C. ayacuchoensis*, *Echinopsis peruviana*, *Oroya peruviana*, *Browningia hertlingiana* y *Oreocereus doelzianus*, siendo las especie de *Corryocactus ayacuchoensis* clasificada en peligro (EN) (De la Cruz et al., 2020).

Considerando la falta de información sobre la biología de las especies de cactáceas endémicas, es importante proponer su conservación, principalmente por su alto endemismo, al ubicarlas en la llanura de los andes (Young, 2007), por su rango limitado y porque son únicas (De la Cruz et al., 2020), lo que describe la riqueza biológica por ser sensibles, vulnerables al cambio climático y actividades antrópicas (Huamaní et al., 2020), cambiar su hábitat podría ser la causa de su extinción (Young, 2007), generando desafíos para el estado y sus aliados conservacionistas (Tellez et al., 2020).

Por lo tanto, es necesario enfocarse en la conservación y protección de especies en peligro de extinción por su importancia ecológica (Huamani, 2015). Actualmente, los métodos de cultivo de tejidos son una herramienta alternativa y eficaz para la restauración y conservación de especies amenazadas, ayudando a proteger frente al problema de la pérdida de la biodiversidad (Villanueva, 2016), sin embargo, se ha observado que cada especie o subespecie responde de manera diferente a las condiciones *in vitro*, siendo necesario desarrollar sistemas de micropropagación de forma particular a cada especie (De la Rosa et al., 2012).

### **2.8.1. Origen y distribución**

La familia de los cactus es de origen americano, y en 1915, la teoría de la deriva continental de Alfred Wegener explicó que la tierra estaba compuesta por una sola masa llamada Pangea hace 300 millones de años, y luego se fragmentó en continentes. Debido a que los cactus surgieron hace unos 80 millones de años después de la división de América del Sur y África, no se encontraron en otros continentes hasta el descubrimiento de América debido a su diversidad de clima, temperatura y elevación. Los cactus se han adaptado para sobrevivir durante millones de años, influyendo en su variedad de texturas, tamaños y formas, lo que los hace aún más atractivos para los coleccionistas. Un ejemplo se encuentra el cactus de puna con una distribución mayor a los 4000 m s.n.m. como la especie *Austrocylindropuntia floccosa* (Ostoloza, 2012). Este grupo consta de dos mil especies aproximadamente, distribuidas en América hasta una altitud de 5100 msnm. (Seeman et al., 2007).

La distribución de los cactus en las Américas se extiende desde el norte de Canadá hasta Columbia Británica y Alberta, la Patagonia Argentina por el sur, las islas Galápagos y Ecuador en el oeste, y hasta el límite de la isla Fernando de Noronha una pequeña isla en el este de Brasil (Ayala & Ayala, 2021; Ostoloza, 2012).

### **2.8.2. Morfología**

Tallo: Carnoso, globular o Cilíndrico, permanece verde durante años por que tiene que realizar la fotosíntesis, función de las hojas (Ostoloza, 2012).

Costillas: Son los bordes elevados del tallo que les permiten almacenar grandes cantidades de agua durante la época de lluvias y aumentar de tamaño, parte prominente y suelen ser donde se ubica la areola (Ostoloza, 2012).

Areola: Es una yema axilar modificada, una estructura exclusiva de las cactáceas, donde aparecen las flores, espinas, frutos, hojas, ramas y pelos (Ostoloza, 2012).

Espinas: Son hojas modificadas surgen de la areola y son muy variables en tamaño, color y forma. Crecen desde la base de la areola y generalmente son fuertes y duras debido a la presencia de lignina (Ostoloza, 2012).

Flores: Flores hermafroditas, son vistosas y coloridas para atraer polinizadores. Los cactus tienen tépalos que juntos forman el perianto y nacen en el borde del receptáculo (tallo modificado), estructura que rodean y protegen el ovario (pericarpelo), a veces extendiéndose con un tubo floral que cubren la mayor

parte de la flor, por eso las flores de los cactus tienen areolas, escamas, pelos, cerdas y espinas (Ostoloza, 2012).

Raíz: Están ramificadas y adaptadas para aprovechar la lluvia ligera y el agua acumulada en el suelo (Ostoloza, 2012).

Tricomas: Los pelos o tricomas consisten en largas filas de células muertas, excluyendo las células basales que se encuentran las semillas y puntos de crecimiento apical (meristemo) del cactus, de color blanco o marrón hasta volverse gris, proceso llamado pubertad (Ostoloza, 2012).

Semillas: La mayor parte de las especies presentan semillas muy pequeñas en forma lenticular o de gorro, envueltas de mucílago y de bajo peso (Ostoloza, 2012).

## **2.9. *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”**

Cactus endémico de Ayacucho de tamaño de 1 a 2 m de altura, 5 cm de ancho, 4 a 5 cm de largo, las espinas son de color blanco a amarillo marrón, flores rojo anaranjado, 5 a 7 costillas, fruto de color verdoso de 2,5 a 3,5 cm, semillas negras a marrones (Ostoloza, 2012), comúnmente conocido como “puchjuli” debido a la acidez de la fruta. Su distribución está restringida a los valles de Muyurina, Chacco y Compañía en la provincia de Huamanga y en algunas provincias al norte de Ayacucho (Ayala & Ayala, 2021), también están distribuidas en Huancavelica y Apurímac (Ostoloza, 2012).

### **2.9.1. Clasificación taxonómica**

La clasificación taxonomía según Cronquist en 1988:

División : Magnoliophyta  
Clase : Magnoliopsida  
Subclase : Caryophyllidae  
Orden : Caryophyllales  
Familia : Cactaceae  
Género : *Corryocactus*  
Especie : *Corryocactus ayacuchoensis*

Categoría del CITES: **En peligro (EN)** (MINAM, 2018).



**Figura 1.** Planta de *Coryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, Ayacucho septiembre de 2021.

### **2.9.2. Formas de reproducción de cactáceas**

Las cactáceas pueden reproducirse vía sexual y asexual (Martínez & Molina, 2013), actualmente se propagan por métodos biotecnológicos de cultivo de tejidos y métodos tradicionales de propagación por semilla, hijuelos, esquejes e injertos (Rubluo et al., 1996; Trevizan & Baltierra, 2018), por medio de semillas posee problemas de germinación al estar en condiciones ambientales adversas, al necesitar factores como agua, temperatura y luz, además de no florecer bien por lo que es difícil conseguir las semillas, también existe la forma de propagar mediante esquejes de tallo ya que son columnares (Trevizan & Baltierra, 2018), la desventaja es que no regeneraran rápidamente si las condiciones no son óptimas (Hoffmann & Walter, 2004), necesitan cicatrizar adecuadamente en un área seca y ventilada. Además, las plantas madre deben ser saludable, libre de daño solar, plagas y/o enfermedades (Livera, 1991; Trevizan & Baltierra, 2018).

### **2.9.3. Importancia**

Su fruto es ácido y los lugareños lo conocen como “puchjuli”, lo consumen en su cansancio por el contenido de vitamina C, también es utilizada como protección de cercos y ornamental por su adaptación a macetas y flores atractivas (Ayala & Ayala, 2021), además contiene almidones, azúcares reductores, alcaloides, monosacáridos, compuestos fenólicos, saponinas, taninos, cumarinas, triterpenos y flavonoides justificando la utilización como fuente de energía, salud y nutrición, ya que investigaciones han demostrado que el fruto de *Coryocactus ayacuchoensis* contiene más vitamina C que el frutos de *Coryocactus brevistylus* "sanky" (Atausupa, 2019).



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del lugar de estudio

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio y vivero de la Especialidad de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de noviembre de 2021 a mayo de 2022.

#### 3.2. Recolección de material vegetal

Se recolectó 100 areolas y 5 frutos de *Corryocactus ayacuchoensis* del cerro de San Cristóbal del centro comunal Compañía, distrito de Pacaycasa, departamento de Ayacucho, a una altitud de 2535 m s.n.m.

#### 3.3. Obtención del material vegetal

1. Para la obtención de las areolas se realizó la aclimatación de los tallos en el vivero durante un mes.
2. Las areolas se obtuvieron de segmentos de tallos jóvenes de 4 a 6 cm, provenientes de plantas preaclimatadas sanas y vigorosas.
3. Las semillas se recolectaron de frutos maduros y se lavó con detergente y agua corriente para eliminar la suciedad.
4. Posteriormente fueron colectadas con un colador y lavadas del resto del mesocarpio, para su posterior secado durante 24 horas.

#### 3.4. Estandarización del protocolo de desinfección

La desinfección se realizó en una cámara de flujo laminar en condiciones asépticas.

##### a) Desinfección de semillas

1. Se lavó las semillas con agua y detergente (10 g/L), eliminándose la suciedad con una escobilla, se enjuagó con agua corriente y se trasladó al área de transferencia aséptica en frascos de vidrios estériles.
2. Posteriormente dentro de la cámara de flujo laminar se desinfectó con

alcohol al 96% durante 30 segundos, seguido se sumergieron en solución de hipoclorito de sodio a concentraciones de 2,5%, 3% y 3,5 %, durante 15, 20 y 30 minutos de inmersión.

3. Cumplido el tiempo de inmersión en la solución desinfectante, los explantes se enjuagaron sucesivamente con agua destilada estéril.
4. Las semillas se incubaron a temperatura de 26°C aproximadamente, fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. El proceso de desinfección se evaluó a los 7 días y las variables de respuesta evaluadas fueron: porcentaje de contaminación, porcentaje de oxidación y porcentaje de viabilidad de los explantes.

**b) Desinfección de areolas**

1. Las areolas fueron lavadas con agua y detergente (10 g/L), eliminándose la suciedad con una escobilla, el enjuague se realizó con agua corriente.
2. Las areolas fueron sumergidas en fungicida Benomyl 1,0 g/L durante 5 minutos para posteriormente ser enjuagados con agua destilada estéril y se trasladó al área de transferencia aséptica en frascos de vidrios estériles.
3. Posteriormente dentro de la cámara de flujo laminar se desinfectó con alcohol al 96% durante 30 segundos, seguido se sumergieron en solución de hipoclorito de sodio a concentraciones de 2,5%, 3% y 3,5 %, durante 15, 20 y 30 minutos de inmersión.
4. Cumplido el tiempo de inmersión en la solución desinfectante, los explantes se enjuagaron sucesivamente con agua destilada estéril.
5. Finalmente se procedió a la disección de las areolas, con un tamaño de aproximadamente 1,0 a 1,5 cm, esto con la ayuda de bisturí y pinza estériles, sobre una placa de Petri estéril, en condiciones asépticas; finalmente se sembró en los medios de cultivo Murashigue y Skoog.
6. Las areolas se incubaron a temperatura de 26°C aproximadamente, fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. El proceso de desinfección se evaluó a los 7 días y las variables de respuesta evaluadas fueron: porcentaje de contaminación, porcentaje de oxidación y porcentaje de viabilidad de los explantes.

**Tabla 2.** Protocolo de desinfección para explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, cultivadas en medio Murashigue y Skoog, en el laboratorio de Biotecnología en el mes de noviembre de 2021.

<b>Tratamiento</b>	<b>Explante</b>	<b>NaCl%</b>	<b>Tiempo de desinfección (minutos)</b>
<b>A1</b>	Aréolas	2,5	15
<b>A2</b>	Aréolas	2,5	20
<b>A3</b>	Aréolas	2,5	30
<b>A4</b>	Aréolas	3	15
<b>A5</b>	Aréolas	3	20
<b>A6</b>	Aréolas	3	30
<b>A7</b>	Aréolas	3,5	15
<b>A8</b>	Aréolas	3,5	20
<b>A9</b>	Aréolas	3,5	30
<b>S10</b>	Semilla	2,5	15
<b>S11</b>	Semilla	2,5	20
<b>S12</b>	Semilla	2,5	30
<b>S13</b>	Semilla	3	15
<b>S14</b>	Semilla	3	20
<b>S15</b>	Semilla	3	30
<b>S16</b>	Semilla	3,5	15
<b>S17</b>	Semilla	3,5	20
<b>S18</b>	Semilla	3,5	30

### **3.5. Germinación de semillas**

1. Las semillas fueron previamente incubadas a 28°C, 23°C y a temperatura ambiental (21°C) por 96 horas, que fueron colocadas en placas Petri sobre discos de papel toalla saturadas de agua destilada estéril en condiciones de oscuridad.
2. Posteriormente fueron lavadas con detergente (10 g/L), e inmediatamente enjuagadas con agua corriente y se trasladó al área de transferencia aséptica en frascos de vidrios estériles.
3. Posteriormente dentro de la cámara de flujo laminar se desinfectó con solución de etanol al 70% durante 30 segundos, luego con NaClO a una concentración de 3,5% durante 20 min de inmersión.
4. Finalmente fueron enjuagadas con agua destilada estéril después de colocar el agente desinfectante.
5. Las semillas fueron colocadas en medio Murashigue y Skoog más 2,0 g/L de carbón activado para la germinación de las semillas.
6. Después de haber sembrado las semillas en medio Murashigue y Skoog, con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad; se extrajeron

las areolas en el área de transferencia aséptica, con la ayuda de bisturí y pinza en una placa de Petri estéril, fueron cultivados en medio Murashigue y Skoog suplementado con compuestos orgánicos, ANA y BAP.

**Tabla 3.** Protocolo de obtención de areolas a partir de semillas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, cultivadas en medio Murashigue y Skoog; en el laboratorio de Biotecnología en el mes de noviembre a diciembre de 2021.

Tratamiento	Explante	Temperatura °C
G1	Semillas	21°C
G2	Semillas	28°C
G3	Semillas	23°C

### 3.6. Optimización del medio de cultivo

1. El medio utilizado fue Murashigue Skoog suplementado con compuestos orgánicos (jugo de piña, jugo de plátano, jugo de tomate y agua de coco) a una concentración del 10%, bencilaminopurina (BAP) y ácido 1-naftalenacético (ANA) en concentraciones variables más carbón activado 2,0 g/L (Tabla 4 y 5).
2. Los explantes sembrados fueron transferidos al área de crecimiento a condiciones controladas de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.
3. Los cultivos fueron monitoreados cada 7 días y se registró la formación de brotes y raíces, las medidas se realizaron con ayuda una regla.

**Tabla 4.** Tratamiento en la introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli” en medio Murashigue Skoog suplementado con bencilaminopurina (BAP) y ácido 1-naftalenacético (ANA), en el laboratorio de Biotecnología en el mes de diciembre de 2021 a febrero de 2022.

Tratamientos	Fitorregulador mg/L	
	BAP	ANA
T1	0,5	--
T2	1,0	--
T3	2,0	--
T4	--	0,25
T5	--	0,5
T6	--	1,0
T7	2	0,25
T8	1,0	0,5
T9	0,5	1,0
Control	--	--

**Tabla 5.** Tratamiento en la introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli” en medio Murashigue Skoog suplementado con compuestos orgánicos, en el laboratorio de Biotecnología en el mes de diciembre de 2021 a febrero de 2022.

Tratamiento	Agua de coco	Jugo de piña	Jugo de tomate	Jugo de plátano
<b>Coco</b>	10%	--	--	--
<b>Piña</b>	--	10%	--	--
<b>Tomate</b>	--	--	10%	--
<b>Plátano</b>	--	--	--	10%
<b>Control</b>	--	--	--	--

### 3.7. Aclimatación de las plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis*

1. Se esterilizó por 15 minutos a una temperatura de 121°C, a una presión 15 Lb pulg<sup>-2</sup>, diferentes sustratos agrolita, musgo y compost con diferentes proporciones.
2. Las plántulas *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* se lavaron con agua destilada estéril para eliminar los residuos del medio de cultivo.
3. Posteriormente se sumergió en el enraizador comercial Floresta 1,0 g/L durante 12 horas antes de ser colocadas al sustrato.
4. Las plántulas fueron colocadas en vasos unicele de 200 mL, las que contenían agrolita, musgo y compost, y combinadas en relación (1:1).
5. Los vasos se cubrieron con bolsas de polietileno blanco que se perforaron gradualmente para aumentar el intercambio de gases durante 7 días antes de ser transferido a condiciones de invernadero.
6. A los 40 días de aclimatación, se evaluó el porcentaje de supervivencia, cuando las plantas mostraron signos de reanudación del crecimiento.

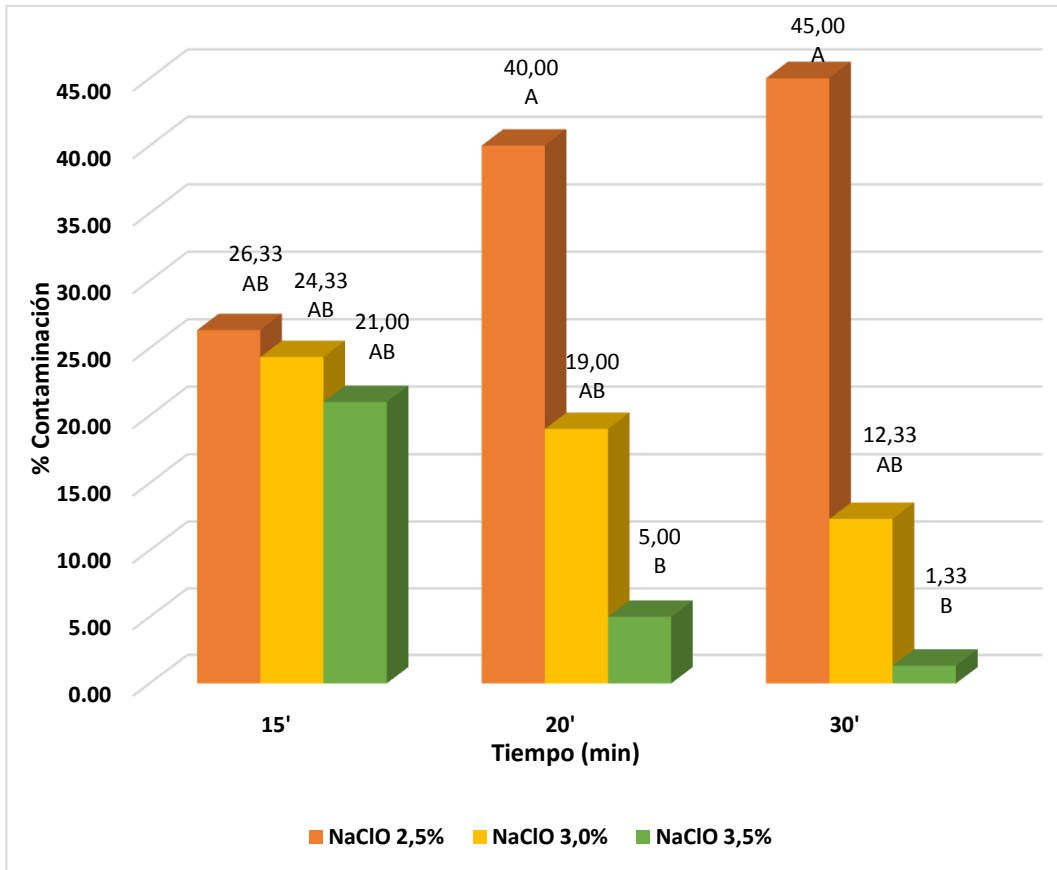
**Tabla 6.** Aclimatación de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli” con diferentes proporciones de agrolita, musgo y compost, en los laboratorios de Biotecnología en el mes de marzo a mayo de 2022.

Tratamientos	Sustratos
<b>A1</b>	Musgo
<b>A2</b>	Agrolita
<b>A3</b>	Compost
<b>A4</b>	1 Agrolita: 1 musgo
<b>A5</b>	1 compost: 1 musgo
<b>A6</b>	1 Agrolita: 1compost
<b>A7</b>	1 Agrolita: 1 compost: 1 musgo

### **3.8. Análisis estadístico**

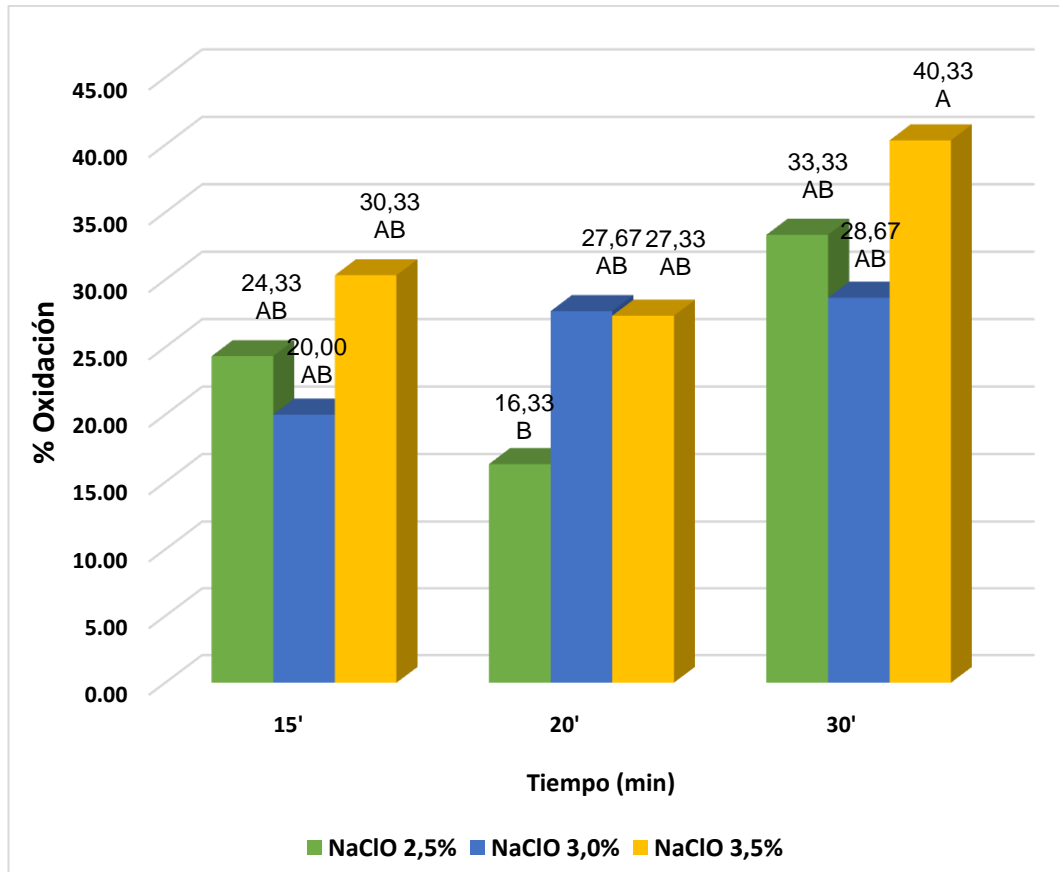
Los explantes se asignaron aleatoriamente a cada tratamiento y los tratamientos se asignaron mediante un arreglo factorial. Los datos obtenidos se presentaron en tablas y figuras para comparar el porcentaje de contaminación, oxidación y viabilidad, número y tamaño de brotes y raíces, el procesamiento utilizado fue la estadística paramétrica con un nivel de significancia del 95% prueba de análisis de varianza (ANOVA), y cuando fue significativo ( $P < 0,05$ ), se procedió a realizar comparaciones de medias con la prueba de Tukey para discriminar diferencias entre tratamientos. Los análisis estadísticos que se muestran se realizaron con el Software Minitab 17.

#### **IV. RESULTADOS**

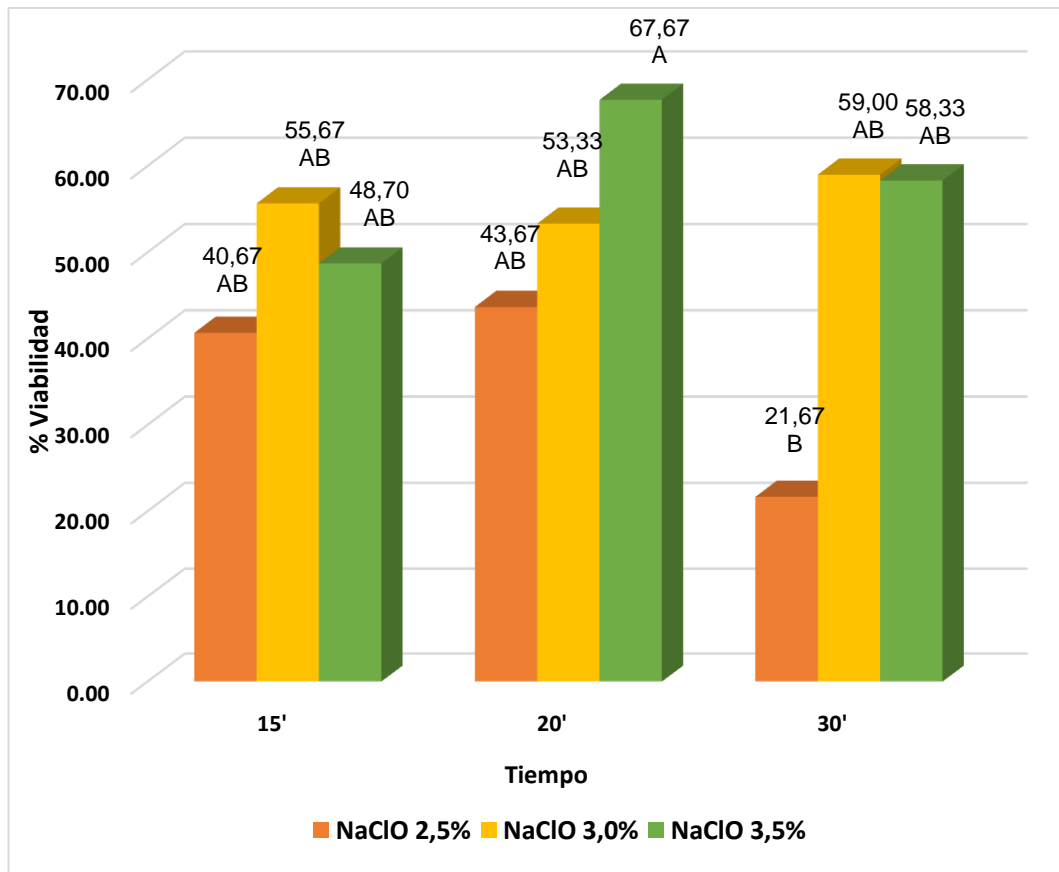


**Figura 2.** Contaminación de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

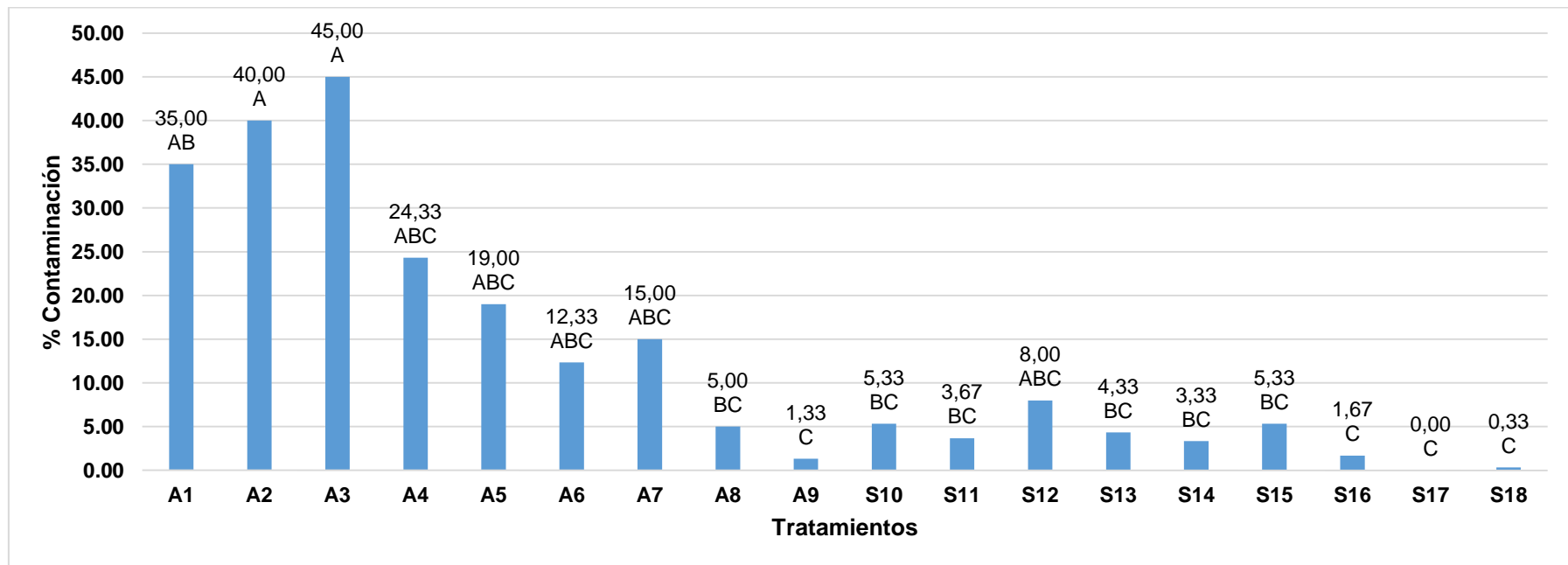




**Figura 3.** Oxidación de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación al tiempo y la concentración de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.



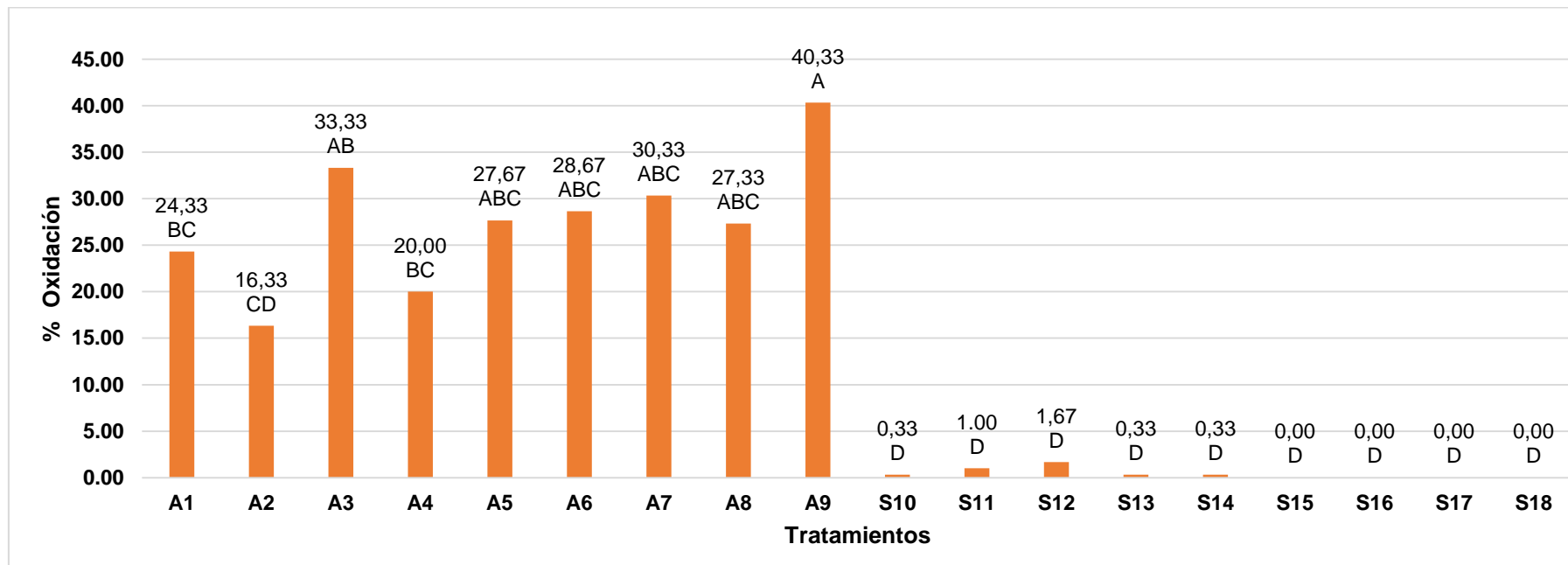
**Figura 4.** Viabilidad de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación al tiempo y la concentración de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.



**Figura 5.** Contaminación de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación del tipo de explante, los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

Código	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18
Explante	A	A	A	A	A	A	A	A	A	S	S	S	S	S	S	S	S	S
% NaClO	2,5	2,5	2,5	3,0	3,0	3,0	3,5	3,5	3,5	2,5	2,5	2,5	3,0	3,0	3,0	3,5	3,5	3,5
Tiempo (min)	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30

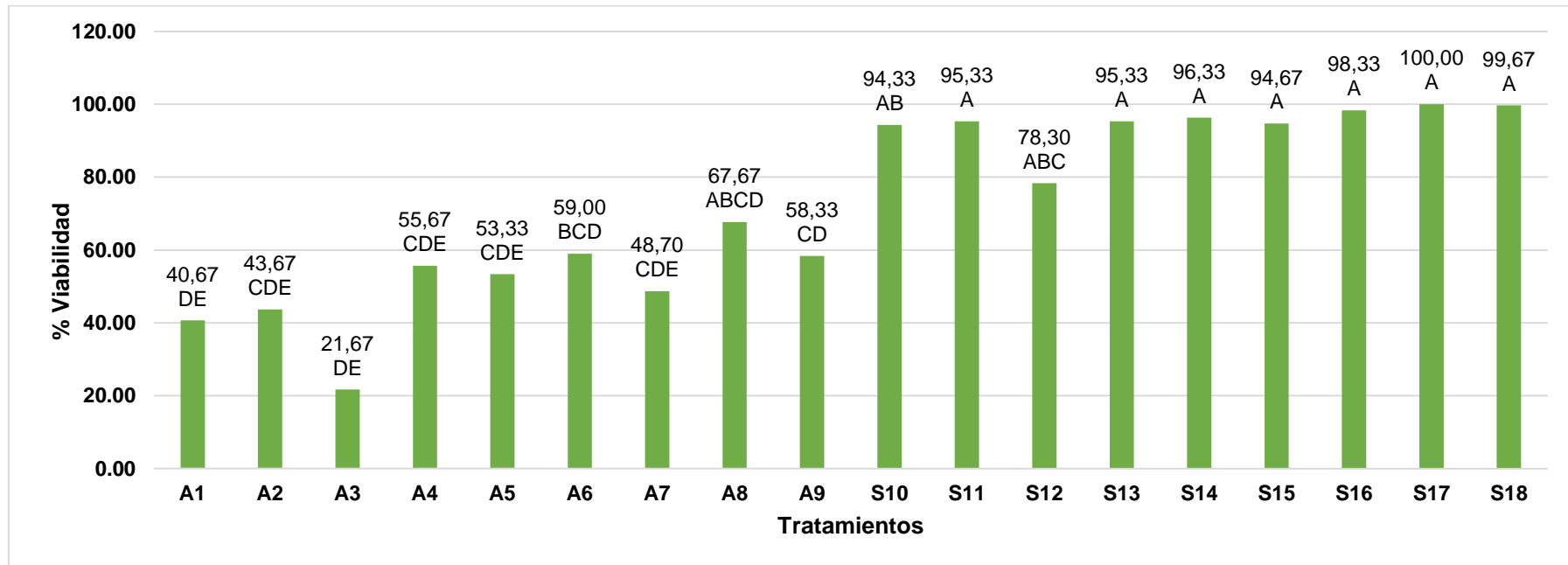
A: areola S: semilla



**Figura 6.** Oxidación de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación del tipo de explante, los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

Código	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18
Explante	A	A	A	A	A	A	A	A	A	S	S	S	S	S	S	S	S	S
% NaClO	2,5	2,5	2,5	3,0	3,0	3,0	3,5	3,5	3,5	2,5	2,5	2,5	3,0	3,0	3,0	3,5	3,5	3,5
Tiempo (min)	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30

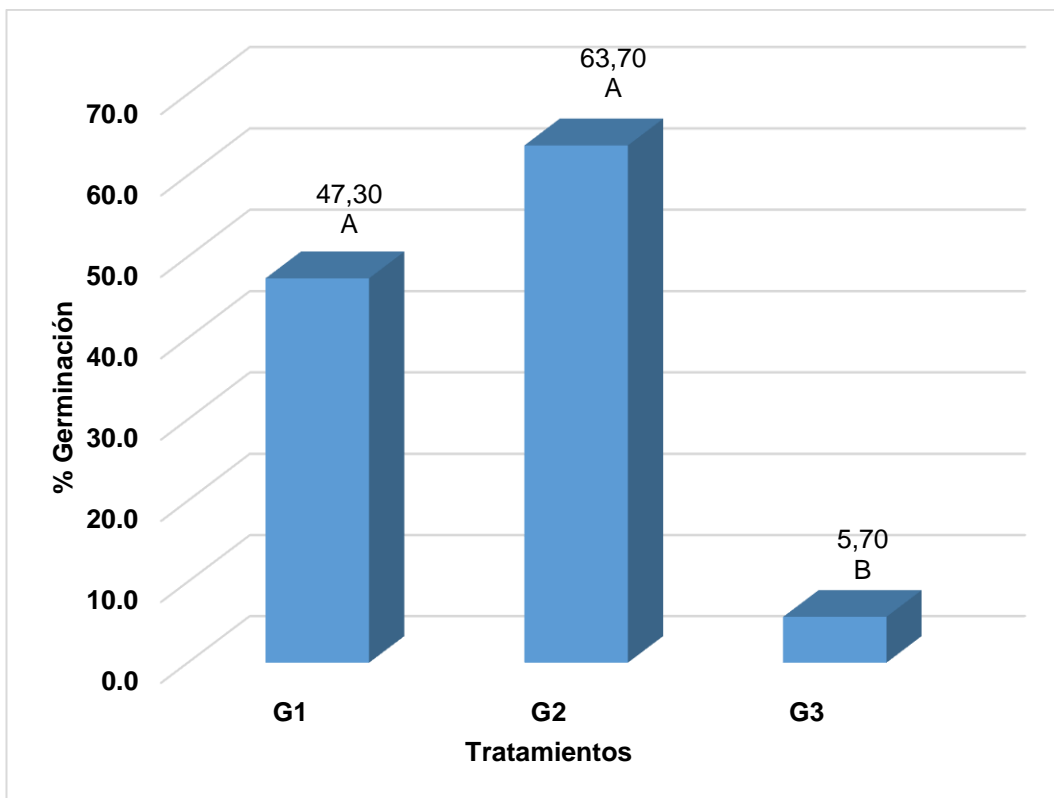
A: areola S: semilla



**Figura 7.** Viabilidad de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación del tipo de explante, los tiempos y las concentraciones de NaClO, a los 7 días de introducción. Ayacucho, noviembre de 2021. Prueba de Tukey (P<0,05), letras diferentes son significativamente diferentes.

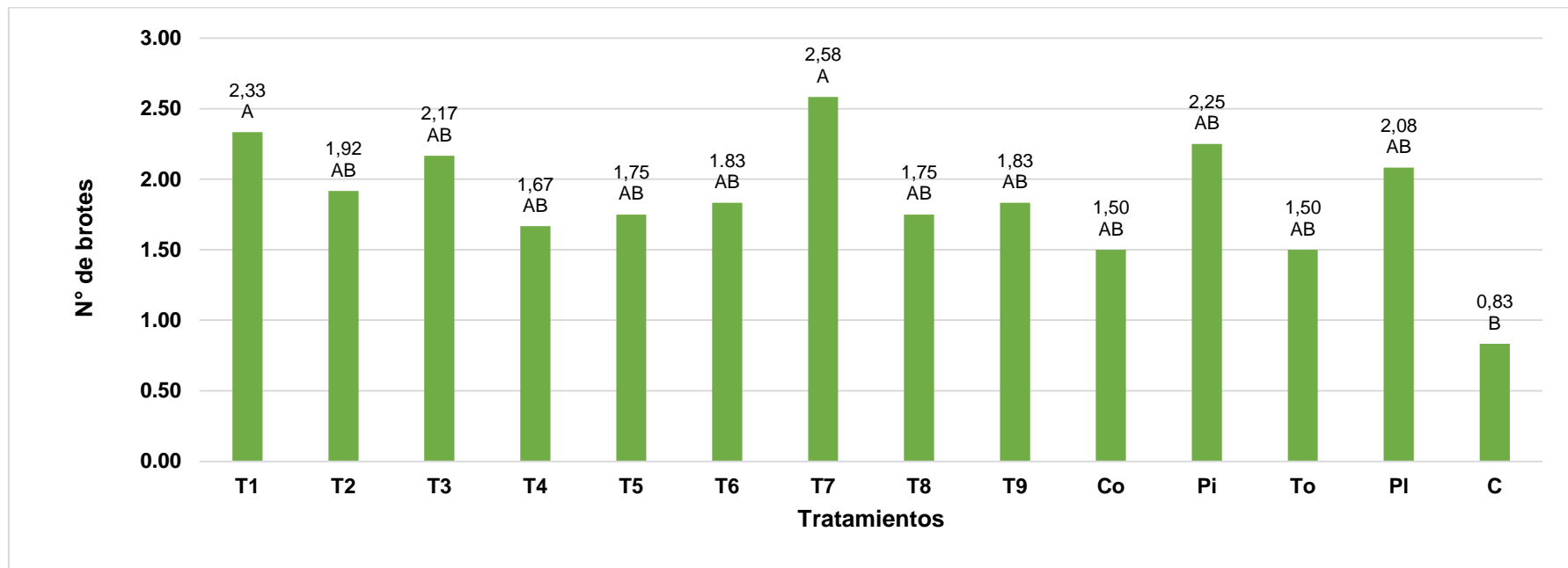
Código	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18
Explante	A	A	A	A	A	A	A	A	A	S	S	S	S	S	S	S	S	S
% NaClO	2,5	2,5	2,5	3,0	3,0	3,0	3,5	3,5	3,5	2,5	2,5	2,5	3,0	3,0	3,0	3,5	3,5	3,5
Tiempo (min)	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30	15	20	30

A: areola S: semilla



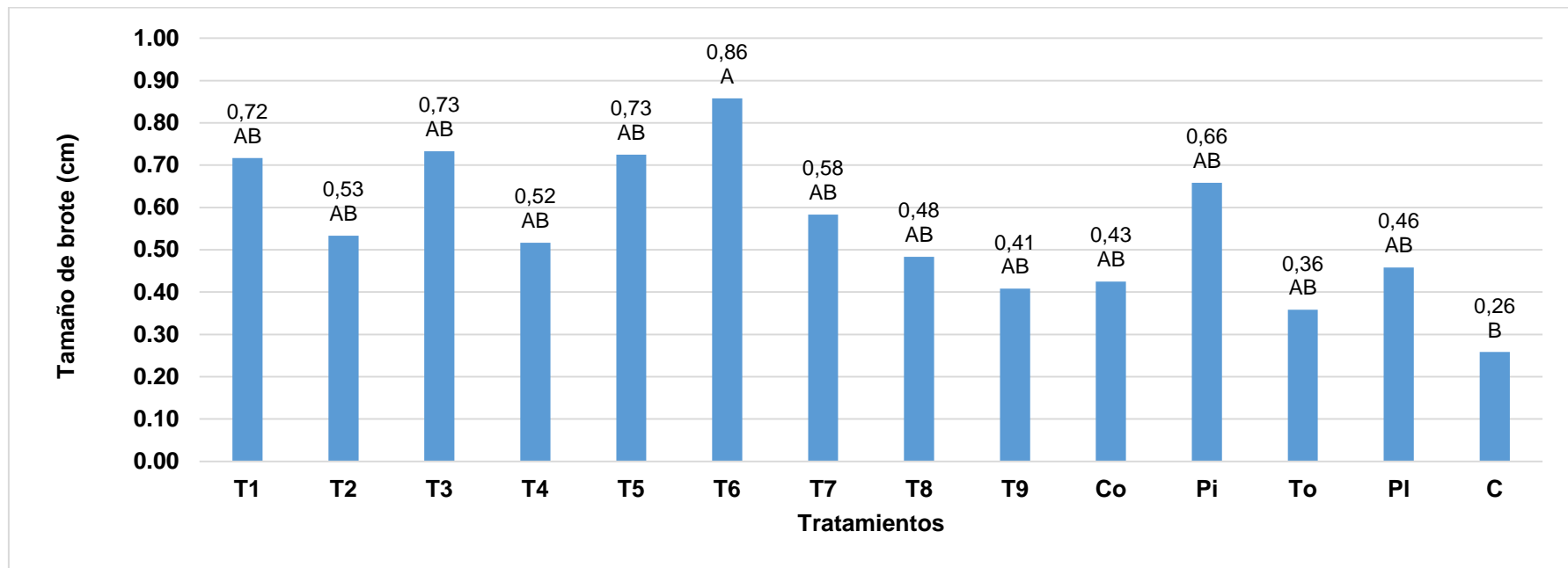
**Figura 8.** Germinación de semillas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, diciembre de 2021. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

Tratamientos	G1	G2	G3
Temperatura	23°C	28°C	21°C



**Figura 9.** Número de brote por explantes de *Coryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

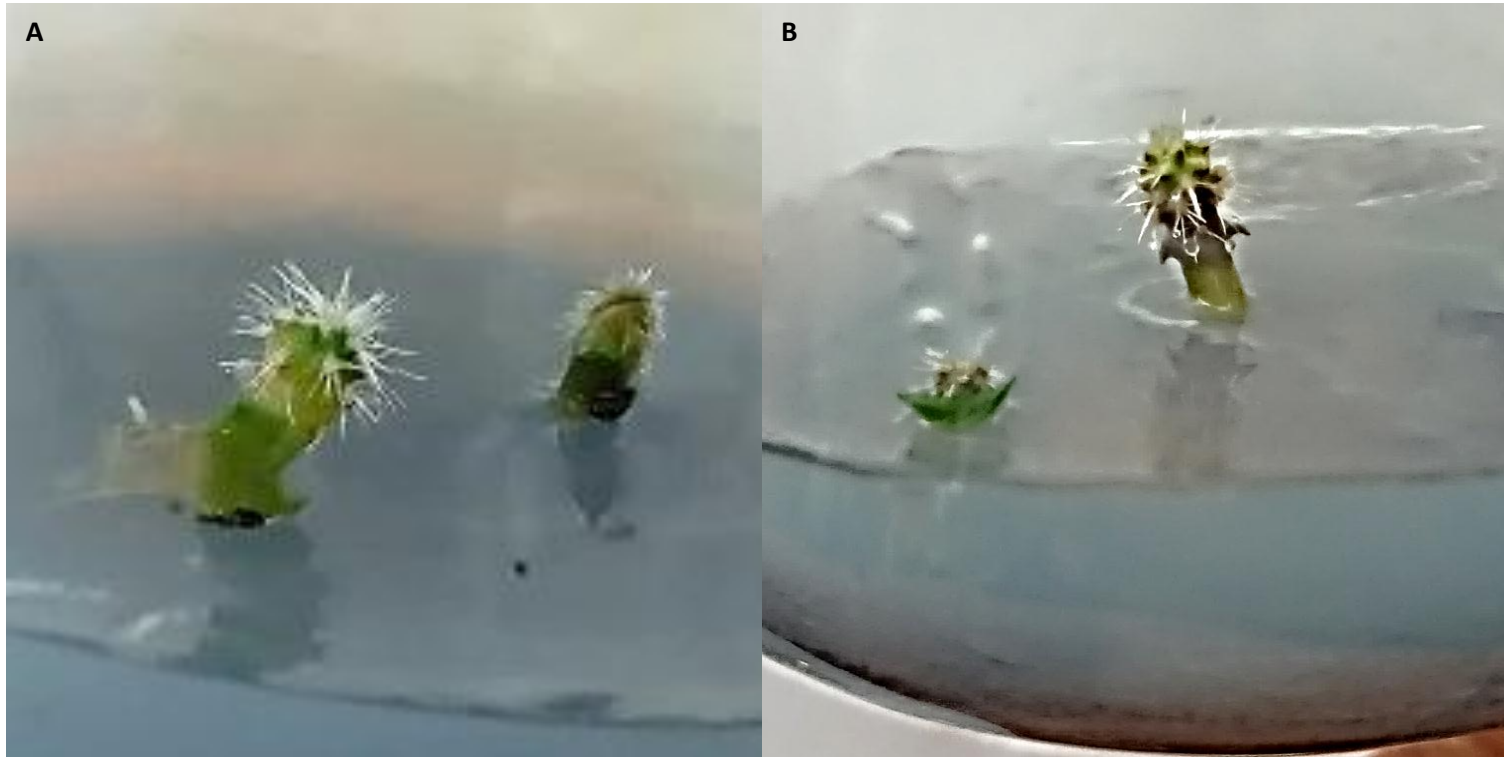
Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	Co	Pi	To	PI	C
BAP mg/L	0,5	1,0	2,0	--	--	--	2,0	1,0	0,5	--	--	--	--	--
ANA mg/L	--	--	--	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	--	--	--	--	--
Compuesto orgánico 10 %	--	--	--	--	--	--	--	--	--	Agua de coco	jugo de piña	jugo de tomate	jugo de plátano	--



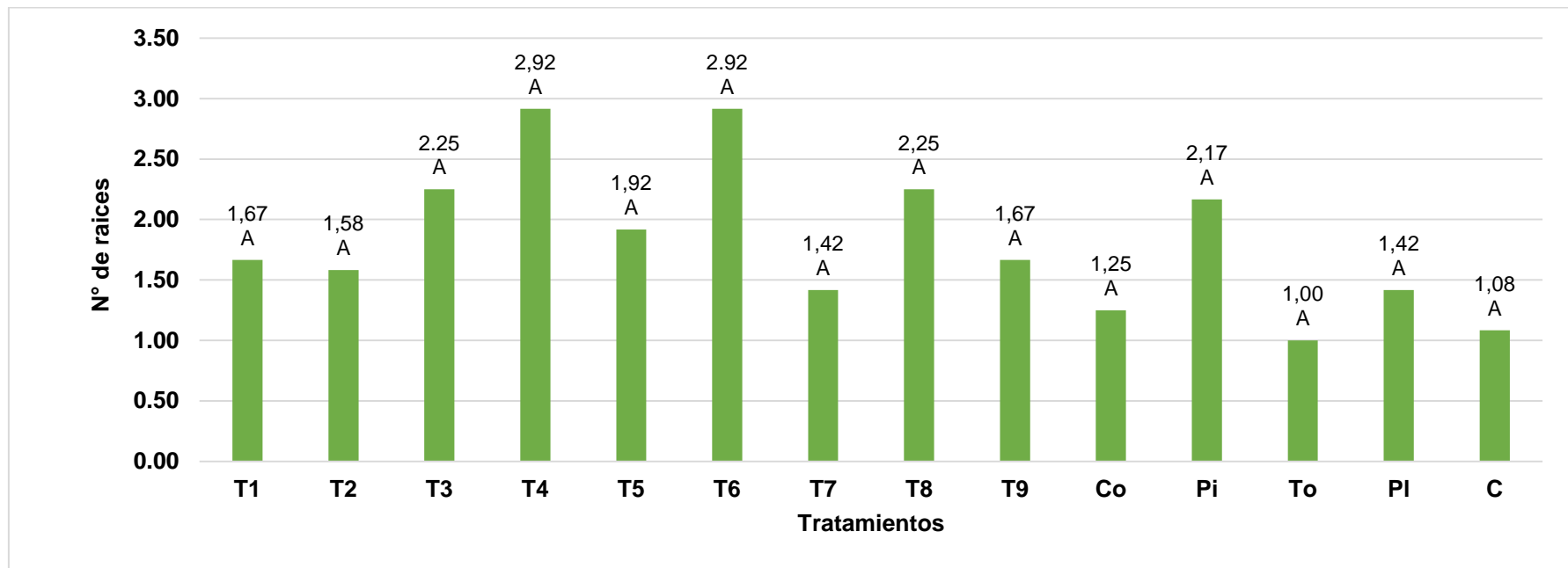
**Figura 10.** Tamaño de brote por explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	Co	Pi	To	PI	C
BAP mg/L	0,5	1,0	2,0	--	--	--	2,0	1,0	0,5	--	--	--	--	--
ANA mg/L	--	--	--	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	--	--	--	--	--
Compuesto Orgánico 10 %	--	--	--	--	--	--	--	--	--	Agua de coco	jugo de piña	jugo de tomate	jugo de plátano	--



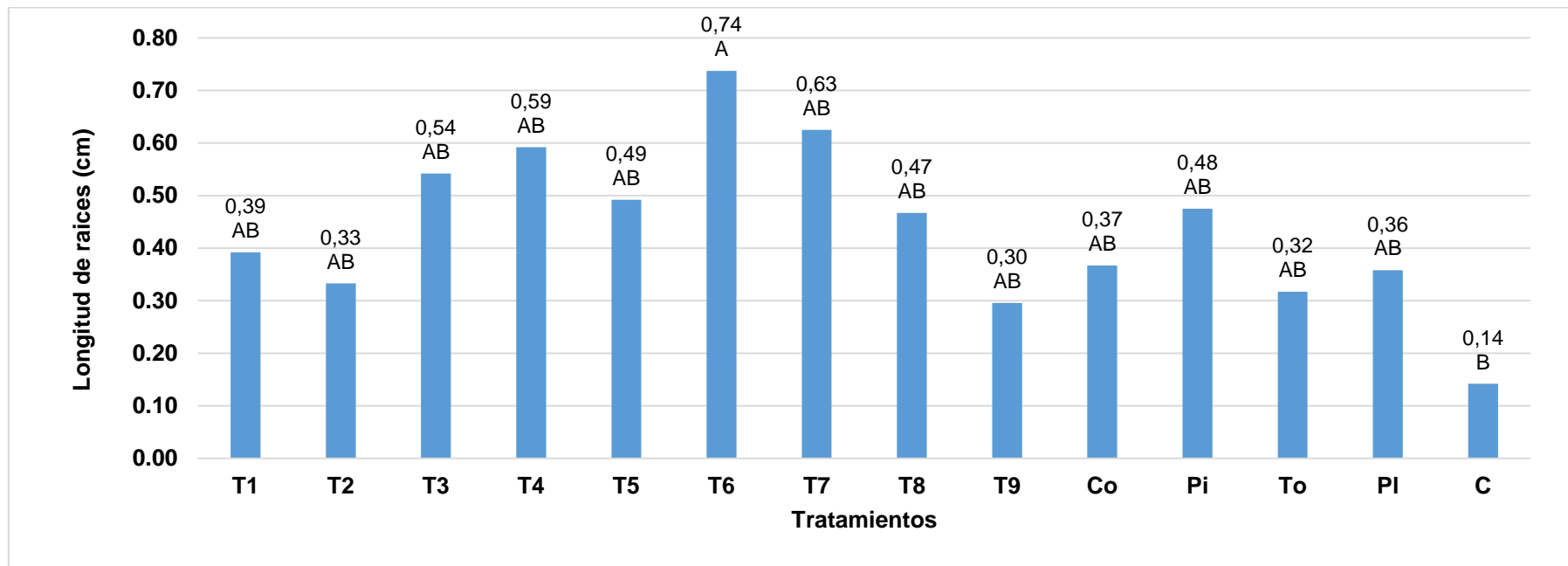


**Figura 11.** Plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis* "puchjuli", A. En brotación y B. Crecimiento del tallo, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022.



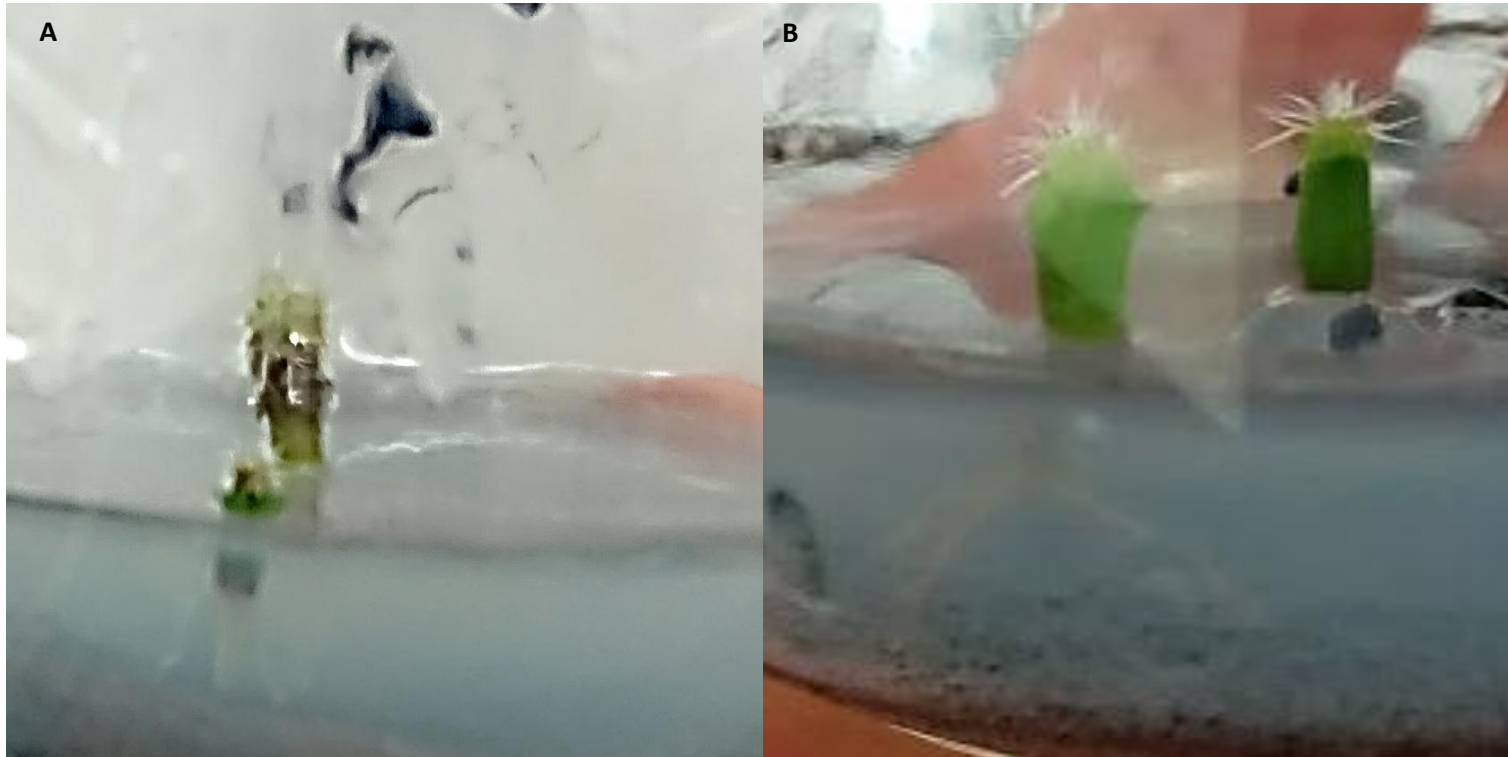
**Figura 12.** Número de raíces por explantes de *Coryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	Co	Pi	To	PI	C
BAP mg/L	0,5	1,0	2,0	--	--	--	2,0	1,0	0,5	--	--	--	--	--
ANA mg/L	--	--	--	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	--	--	--	--	--
Compuesto orgánico 10 %	--	--	--	--	--	--	--	--	--	Agua de coco	jugo de piña	jugo de tomate	jugo de plátano	--

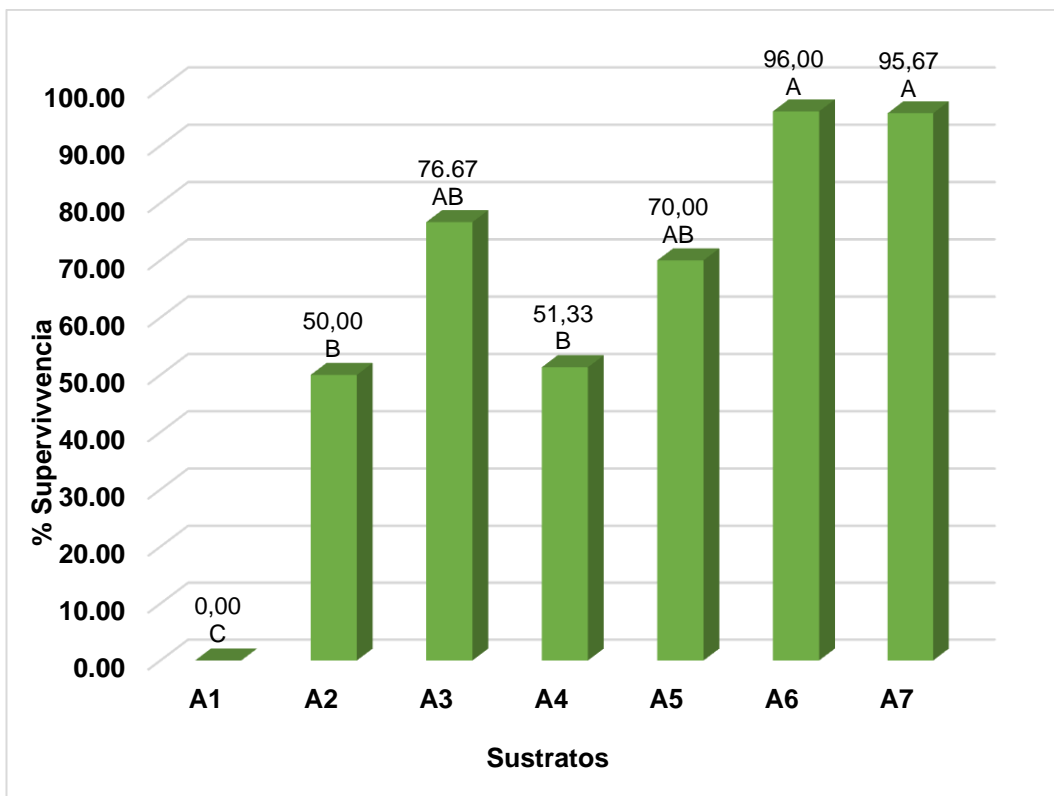


**Figura 13.** Longitud de raíces de los explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en relación a los tratamientos, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	Co	Pi	To	PI	C
BAP mg/L	0,5	1,0	2,0	--	--	--	2,0	1,0	0,5	--	--	--	--	--
ANA mg/L	--	--	--	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	--	--	--	--	--
Compuesto orgánico 10 %	--	--	--	--	--	--	--	--	--	Agua de coco	jugo de piña	jugo de tomate	jugo de plátano	--



**Figura 14.** Plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, A y B. Enraizamiento, a los 40 días de introducción a nivel *in vitro*. Ayacucho, febrero de 2022.



**Figura 15.** Supervivencia de las plantas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 50 días de aclimatación. Ayacucho, mayo de 2022. Prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ), letras diferentes son significativamente diferentes.

Código	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
Sustratos	Mus	Agr	Com	1Agr:1mus	1com:1mus	1Agr:1com	1Agr:1com:1mus
Agr:	Agrolita		Com:	compost		Mus:	musgo

## V. DISCUSIÓN

En la investigación se realizó en tres etapas; la estandarización del protocolo de desinfección, optimización del medio de cultivo y la aclimatación a condiciones *ex vitro*. En la etapa de desinfección el menor porcentaje de contaminación fue de 1,33%, lo cual se obtuvieron con el tratamiento a 3,5% NaClO en 30 minutos de inmersión (Figura 2); mientras que la mayor viabilidad de los explantes fue de 67,77% con el tratamiento a 3,5% NaClO a 20 minutos de inmersión (Figura 4). También se obtuvo 40,33% de oxidación de los explantes con el tratamiento a 3,5% NaClO durante 30 minutos de inmersión, mientras que el menor porcentaje de oxidación fue de 16,33%, obtenido con el tratamiento 2,5% NaClO a 20 minutos de inmersión (Figura 3), es por ello que se debe tener en cuenta la dosis del desinfectante, el tiempo de inmersión óptimos para cada especie, ya que la susceptibilidad del explante al NaClO está asociada al catión  $\text{Na}^+$  siendo un ion no esencial que llega ser tóxico para el tejido (Hasegawa & Bressan, 2000), asimismo se debe considerar la pubescencia del tejido, se recomienda un prelavado con un 70% de etanol durante 30 segundos de inmersión para romper la tensión superficial y facilitar la acción de los desinfectantes en la superficie de tejidos (Habiba et al., 2002).

Aspectos fundamentales como la esterilidad, selección de explantes, elección del medio y las condiciones favorables de crecimiento deben ser considerado en cualquier proceso de establecimiento de cultivo *in vitro*. En cuanto a la esterilidad es el principal requisito para el éxito y asegurar un buen crecimiento (Chirino et al., 2017; Ross et al., 2008). Muchos microorganismos que habitan los espacios intercelulares, haces vasculares y en relación endógena desde su ambiente natural quedan protegidas de los agentes desinfectantes, lo que dificulta la obtención de material estéril incluso con las precauciones (Druart, 1997), pudiendo llegar hasta un 95% de contaminación sino se realiza una adecuada

desinfección, especialmente cuando la planta donadora procede de condiciones de campo (Chirino et al., 2017; Toribio, 2005), como el material vegetal utilizado en la investigación (semillas y areolas). Para optimizar el protocolo de desinfección se evaluó la concentración de NaClO, el tiempo de inmersión y el tipo de explante. Se observó que el éxito de la introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* depende más de la concentración de NaClO y del tipo de explante, pero no del tiempo de inmersión, reportándose que a medida que aumenta la concentración de NaClO en areolas, disminuye la contaminación y aumenta la oxidación del explante, pero en semillas, la concentración de NaClO y el tiempo de inmersión no son significativos, es por ello que en las areolas se evidenció hasta un 100% de contaminación que principalmente fue de tipo fúngico, para ello se utilizó una previa inmersión de 5 minutos del fungicida comercial Benomyl a 1,0 g/L reduciendo hasta un 45% de contaminación reportado en el tratamientos A3 con 2,5% de NaClO por 30 minutos de inmersión; mientras que el menor se reportó en el tratamiento A9 fue de 1,33 % de contaminación con 3,5% de NaClO por 30 minutos de inmersión (Figura 5). En las semillas se evidenció hasta un 8% de contaminación en el tratamientos S12 con 2,5% de NaClO por 30 minutos, mientras que el menor se reportó en el tratamiento S17 fue de 0% de porcentaje de contaminación con 3,5% de NaClO por 20 minutos de inmersión (Figura 5); el alto porcentaje de contaminación en las areolas se debe a la dificultad de desinfección por su morfología, ya que presentan estructuras como espinas, tricomas y crestas en las costillas, donde no hay contacto con el desinfectante (Balch et al., 1998); por lo tanto, se recomienda el uso de semillas por que presentan una cápsula que reduce la carga microbiana a casi nula (Toribio, 2005). Ya que también brindan condiciones óptimas para el crecimiento microbiano y compiten con los explantes por el medio nutritivo (Pérez et al., 2016).

Otro factor principal en la muerte de las areolas fue la oxidación, los cuales presentaron un máximo de 40,33% de oxidación en el tratamiento A9, seguidos por A3 con 33,33 % de oxidación (Figura 6), mientras que en las semillas se evidenció un 1,67% de oxidación en el tratamiento S12 (Figura 6). El mayor porcentaje de oxidación fue en areolas y puede deberse a la exposición directa al hipoclorito de sodio (NaClO), ya que este agente químico fue empleado como germicida por su bajo efecto tóxico en los tejidos causando la necrosis y muerte de los tejidos (López et al., 2010). Por lo contrario en las semillas no fueron

expuestas directamente a este agente químico, al tener una testa que los protege, y que le atribuye la capacidad antioxidante, siendo recomendable en la obtención de plántulas con alta calidad fitosanitaria (Jadán et al., 2016).

La oxidación fue más prevalente en las areolas, detectada 7 días después de la introducción *in vitro* con un 40,33% de oxidación en el tratamiento A9 a 3,5% de NaClO por 30 minutos de inmersión (Figura 6), principalmente esta característica se atribuye al daño oxidativo que suceden en especie reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) tienen varios orígenes, incluida la acción abrasiva de los desinfectantes a través de la acción de las peroxidasas, que catalizan la oxidación en presencia de peróxido y otros radicales libres liberados durante el corte y la limpieza del explante (George, 1996), también influye la composición del medio con el volumen y la calidad del frasco, lo que conduce a desequilibrios de citoquininas y auxinas, desencadenado el estrés oxidativo y microsativo (Bray et al., 2000 y Van Staden et al., 2006), otro factor es la composición del medio Murashige y Skoog contiene iones de  $Fe^{2+}$  que pueden generar radicales hidroxilo (OH) a través de la acción enzimática de fenton, este radical destruye por oxidación a los polisacáridos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos provocando daño oxidativo y muerte celular (Bray et al., 2000; Azofeifa, 2009), como también la presencia de enzimas polifenol oxidasas (PPO) como tirosinasas, fenolasas y peroxidasas (Córdova et al., 2014; Pompeu et al., 2008) que generan quinonas radiactivas que produce el daño y muerte celular, produciendo el ennegrecimiento de tejidos (Amiot, 1996; Bray et al., 2000; Azofeifa, 2009), investigaciones mencionan el uso de los antioxidantes y el más usado es el carbón activado (CA) como agente que controla la oxidación de segmentos nodales en *Handroanthus heptaphyllus* con 3,0 g/L de CA (Díaz et al., 2021) y a 2,0 g/L de CA en *Acrocomia aculeata* (Fernández et al., 2016), por su propiedad de dar las condiciones de oscuridad al suprimir la oxidación e inhibir la vía del ciclo sikimico, en el que se forma el fenol que luego se convierte en una quinona reactiva, proceso dependiente de la luz (Fernández et al., 2016; Quiñones et al., 2012), y su capacidad de eliminar inhibidores o sustancias tóxicas resultantes de la esterilización del medio o producidas cuando los explantes liberan al medio (Azofeifa, 2009).

Se reportó hasta un 67,67% de porcentaje de viabilidad en las areolas con el tratamiento A8, mientras que en las semillas se reportaron valores de 100%, 99,67%, 98,33% y 96,33% de viabilidad en los tratamientos S17, S18, S16 y S14 respectivamente (Figura 7).



En la etapa de germinación de semillas de *Corryocactus ayacuchoensis*, el tratamiento con mayor porcentaje de germinación de semillas fue en el tratamiento G2 fue de 63,7%, seguido del tratamiento G1 fue de 47,3% de germinación, mientras que el tratamiento G3 tuvo un 5,7% de germinación después de los 40 días de introducción *in vitro* (Figura 8), características propias de las semillas termófilas y fotoblásticas positivas, y otro factor, el tamaño de semillas dependieron la rapidez de germinación, ya que en las especies de cactáceas *Trichocereus candicans* y *Trichocereus strigosus* fue de 94,8% y 91,6% de germinación a 20°C y 30°C de temperatura de incubación bajo la luz blanca (Méndez, 2011). Sin embargo, muchos autores coinciden que los factores importantes que influyen en la germinación son la luz y la temperatura (Rojas et al., 1998), a temperaturas entre 20°C a 30°C alcanzan su máxima germinación de semillas en su ambiente natural (Almada, 2019; Méndez & Perez, 2008). Otros autores atribuyeron al contenido de nitrógeno y potasio en la composición de los medios Murashigue y Skoog por la presencia nitrato de amonio como fuente de nitrógeno, además que el carbón activado aumenta la aireación y forma un medio oscuro para el desarrollo de raíces, además de su capacidad para absorber pigmentos, etileno e inhibidores (Flores et al. 2011), control de factores como la luz, la humedad, la aireación, la temperatura y el hecho de que las semillas tienen una cubierta delgada crean relaciones con la ultraestructura de la semilla cuando entra en contacto con el medio de cultivo e induzca la germinación y permite que las plantas crezcan *in vitro* (Villavicencio et al., 2012), por lo cual muchos autores recomiendan utilizar algún fitoregulador a condiciones *in vitro* para acelerar la rapidez de germinación y evitar problemas de contaminación (Mállap et al., 2022).

Para la especie *Corryocactus ayacuchoensis*, se ha observado que la mejor forma de propagación es por germinación *in vitro* de semillas en lugar de areolas, el tratamiento que reportó mayor porcentaje de semillas germinadas fue 63,7% que corresponde al tratamiento G2, seguido el tratamiento G1 fue 47,3% de germinación y el tratamiento G3 fue 5,7% de germinación (Figura 8), evidenciándose mayor contaminación en las areolas de hasta un 100% principalmente de hongos y levaduras, por lo que fue necesario sumergir por 5 minutos en fungicida comercial de Benomyl 1,0 g/L, y llegar hasta un máximo de 45% de porcentaje de contaminación (Figura 5), y mantener la viabilidad de las areolas. Los principales contaminantes microbianos más comunes que se

observan durante el establecimiento *in vitro* son hongos filamentosos del género *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Aspergillus*, levaduras y bacterias que pueden ser propias del explante o durante la manipulación en el laboratorio que pueden desarrollarse inmediatamente o permanecen latentemente por largos periodos de tiempo (Altan et al., 2010), otras investigaciones mencionan los mismos problemas utilizando como alternativa de control el antifúngico Benomyl a 2,0 g/L por 30 minutos de inmersión, en cactáceas como *Ferocactus latispinus*, *Mammillaria geminispina*, *Coryphanta radians*, *M. marcosii*, *M. mercadensi*, *M. petterssonii*, *M. magnimamm* (Ramírez & Salazar, 2017) y *Hylocereus costaricensis* controlando problemas de contaminación (Tellez et al., 2020).

La propagación de *Corryocactus ayacuchoensis* a través de semillas presenta problemas debido a su bajo porcentaje de semillas germinadas, observado un menor porcentaje de germinación de semillas *in vitro* fue de 5,7% de germinación a temperatura ambiental (diciembre, 21°C) en condiciones controladas entre un 70% a 90% de humedad (Figura 8), dificultando el establecimiento y prosperidad de las plántulas en sus condiciones naturales por lo que muchos autores mencionan que principalmente las cactáceas arbusculares tienden a una baja producción de semillas, bajo porcentaje de germinación de semillas, su rápida pérdida de viabilidad y su lento crecimiento para obtener plantas adultas, afectando la capacidad de recuperar sus poblaciones naturales (Flores et al., 2008) evidenciándose su fragilidad a la actividad antrópica cuando alteran su hábitad.

En el establecimiento *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* se optimizó el medio Murashigue y Skoog suplementado con diferentes concentraciones 6-bencilaminopurina (BAP; 0,5, 1,0 y 2,0 mg/L), ácido 1-naftalenacético (ANA; 0,25, 0,5 y 1,0 mg/L) y compuestos orgánicos (jugo de piña, jugo de tomate, jugo de plátano y agua de coco) en concentración del 10%. Los tratamientos que mejor respuesta obtuvieron en generar brotes fue en medio Murashigue y Skoog suplementado con ANA y BAP en concentración combinada en el tratamiento T7 de 2,0 mg/L BAP + 0,25 mg/L ANA fue de 2,58 brotes por explante y 0,86 cm de altura, en segundo lugar fue de 2,33 brotes por explante y 0,72 cm de altura en el tratamiento T1 con 0,5 mg/L BAP, sin embargo en los compuestos orgánicos con mejor respuesta fue con el 10% de jugo de piña fue de 2,25 brotes por explante y 0,66 cm de altura, seguido del tratamiento con el 10% de jugo de plátano fue de 2,08 brotes por explante y 0,46 cm de altura a los 40 días de la

introducción (Figura 9 y Figura 10). Los tratamientos que mejor respuesta obtuvieron en generar raíces fue en medio Murashigue y Skoog suplementado con ANA y BAP en concentración combinada en el tratamiento T7 de 2,0 mg/L de BAP + 0,25 mg/L de ANA fue de 2,92 raíces por explante y 0,74 cm de longitud de raíz, seguido con el tratamiento T4 de 0,25 mg/L de ANA fue de 2,92 raíces por explante y 0,54 cm de longitud de raíz, y en los compuestos orgánicos con mejor respuesta fue con el 10% de jugo de piña fue de 2,17 raíces por explante y 0,36 cm de longitud de raíz, seguido del tratamiento con el 10% de jugo de plátano fue de 1,42 raíces por explante y 0,37 cm longitud de raíz a los 40 días de la introducción (Figura 12 y Figura 13). Otras investigaciones demostraron que el jugo de piña son ricos en iones inorgánicos, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos, carbohidratos, péptidos y fitohormonas (Kitsaki et al., 2004; Salazar et al., 2013), que promovieron el desarrollo de *Dendrobium ovatum* y *Laelia rubescens* favoreciendo la organogénesis (Carranza et al., 2021; Thejaswini & Narasimhan, 2017), además de la rizogénesis (Velázquez et al., 2016) efecto similar de las auxinas y citoquininas (Menezes et al., 2016), por tanto los compuestos orgánicos como agua o endospermo de coco, jugo de tomate, piña, plátano, manzana y leche de maíz (Anderson, 1967; Sampedreño & Arel, 2020) promueven la organogénesis y a su vez ayuda a reducir los costos (Menezes et al., 2016). Otro factor importante es el uso de reguladores de crecimiento inductores de calogénesis como ANA y BAP como en la investigación de *Neowerdermannia chilensis* (Rodríguez, 2006), *Astrophytum ornatum* (Mendoza, 2007), sin embargo se observó que la especie *Corryocactus ayacuchoensis* solo generó brotes y raíces, como es el caso con 2,0 mg/L de BAP en la especie *Coryphanta retusa* (Ruvalcaba et al., 2010), y una combinación de 1,0 mg/L de ANA + 1,0 mg/L de BAP resulto exitoso en la producción de brotes en *Opuntia berteri*, *Trichocereus sp.*, *Copiapoa hypogaea*, *Opuntia sp.* y *Mammillaria elongata* y en la formación de callos en *Cereus peruvianus* y *Rhipsalidopsis gaertneri* (Seeman et al., 2007), afirmando que las citoquininas influyen en la formación de los brotes y las auxinas influyen en la diferenciación tisular (Gaspar et al., 1996), así la combinación influye el contenido hormonal del explante, la madurez del tejido y las condiciones de cultivo en la respuesta *in vitro* para cada especie, en cuanto a meristemas en areolas de *Mammillaria schiedeana schiedeana* formó brotes a los 18 semanas con 0,10 mg/L de ANA + 0,5 mg/L de BAP (Soria et al., 2013).

Otro factor importante que se observa con la adición de compuestos orgánicos es el aumento de la viabilidad *ex vitro*, etapas más difícil después del cultivo *in vitro* (Sampedreño et al., 2020). Mientras que otros investigadores afirman que se debe restringir el uso de compuestos orgánicos, ya que se sabe poco sobre su composición exacta, la cual puede variar cualitativamente y cuantitativamente (Roca & Mroginski, 1991); dependiendo de la edad y la particularidad de la planta de la que se obtuvo, optándose en la investigación por frutas en estado más inmaduros por su alto contenido de fitohormonas, como la citocininas y auxinas que están en mayor concentración en órganos jóvenes como los frutos y en la punta de la raíz (Jordan & Casaretto, 2006), ya sea por acumulación, como en la leche de maíz se encuentran después de 2 semanas de la polinización, presentando gran actividad estimuladora de crecimiento (Krikorian, 2015).

En cuanto a la supervivencia en la etapa de aclimatación de las plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis* generadas a nivel *in vitro* variaron de 0 a 96% de supervivencia en los diferentes sustratos más el uso del enraizador comercial por 12 horas de inmersión (Figura 15), obteniendo un 96% de supervivencia en el tratamientos A6 con agrolita + compost (1:1), seguido por el tratamiento A7 fue de 95,67% de supervivencia con agrolita + compost + musgo (1:1:1) (Figura 15), ya que el requerimiento nutricional de las plantas puede variar de acuerdo a cada especie, sin embargo las pérdidas en esta etapa es principalmente por el ataque de hongos y bacterias que generan pudriciones por el exceso de humedad, por tanto es recomendable el uso de un enraizador comercial al contener en su composición fungicidas y proporcionales protección a las plántulas en sus primeras etapas (Balch et al., 1995), por tanto se utilizó el enraizador comercial Floral en concentración 1 g/L cuya composición fue el ácido naftalacético (ANA), ácido indol butírico (AIB), fungicidas y soluciones nutritivas, obteniéndose con éxito de hasta un 96% de supervivencia evitando la muerte por hongos por la alta humedad relativa entre un 90 a 100% y a temperaturas entre 20 a 25 °C, que generan condiciones óptimas para el desarrollo y crecimiento de los hongos, además de los cambios fisiológicos en las plántulas en las que los tallos y las hojas forman una capa cerosa, los estomas regulan fisiológicamente la transpiración y el aparato fotosintético produce sus propios carbohidratos, evidenciándose un efecto beneficioso en el cactus ornamental *Astrophytum myriostigma* con un 95 % de supervivencia al utilizar sustratos como agrolita y arena, por su propiedad de brindar porosidad (Villavicencio et al.,

2009). Por tanto, se necesita más investigación para optimizar la supervivencia mediante la replicación de sustratos de hábitat natural ya que se encuentran en suelos rocosos muy pobres en materia orgánica y suelos calcáreos (De la Rosa et al., 2012).

## VI. CONCLUSIONES

1. El tratamiento desinfección óptimo de *Corryocactus ayacuchoensis* "puchjuli" para las areolas y semillas fue con el 3,5% NaClO durante 20 minutos de inmersión en el cual se reportó un 67,33% y 100% de viabilidad respectivamente.
2. El establecimiento *in vitro* adecuado de *Corryocactus ayacuchoensis* se logró en medio Murashigue y Skoog suplementado con 2,0 mg/L BAP + 0,25 mg/L ANA que alcanzó un 2,58 brotes por explante y el 10% de jugo de piña con 2,27 brotes por explante.
3. El crecimiento *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* reportó el mejor resultado en medio Murashigue y Skoog suplementado con 2,0 mg/L BAP + 0,25 mg/L ANA con 2,58 brotes por explante, una altura 0,86 cm y 2,92 raíces por explante con una longitud de 0,63 cm; y el 10% jugo de piña con 2,27 brotes por explante, una altura de 0,48 cm y 2,17 raíces por explante con una longitud de 0,48 cm.
4. En el tratamiento óptimo de aclimatación de plántulas *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* se obtuvo un 96% de supervivencia con agrolita + compost en proporción (1:1).

## VII. RECOMENDACIONES

- Antes de introducir los explantes a nivel *in vitro*, se debe optimizar el tratamiento de antifúngicos para aumentar la viabilidad del explante y reducir la carga fúngica evitando un alto porcentaje de contaminación.
- Realizar tratamientos de desinfección y oxidación, con distintas sustancias desinfectantes y antioxidantes, teniendo en cuenta el explante.
- Optimizar la micropropagación y embriogénesis somática por su valor comercial, importancia económica y ecológica; con fines de conservación y reforestación de esta especie.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almada, G. (2019). Efecto de la temperatura y la salinidad en la germinación de las especies *Echinopsis leucantha* y *Denmoza rhodacantha* para un uso potencial en actividades de restauración en la provincia de Mendoza . Universidad Nacional de Cuyo, 1, 50.
- Altan, F., Bürün, B., & Şahin, N. (2010). Fungal contaminants observed during micropropagation of *Lilium candidum* L. and the effect of chemotherapeutic substances applied after sterilization. *African Journal of Biotechnology*, 9(7), 991–995.
- Anderso, E. (2001). La familia de los cactus. In *Auvsí Xponential 2017*.
- Arakaki, M., Ostolaza, C., Cáceres, F., & Roque, J. (2006). Cactaceae endémicas del Perú. *Rev. Peru. Biol.*, 13(2), 669–677.
- Atausupa, M. (2019). Etnobotánica y análisis fitoquímico de la familia cactaceae en un contexto de cambio climático en el corredor vial interoceánico en las regiones de Cusco y Puno. *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, 1, 139.
- Ayala, W., & Ayala, H. (2021). *Gia de Cactáceas de la Región Ayacucho. Ecología y Utilidades*, 1(1), 61.
- Balch, E., Villalobos, E., Rangel, E., & Rangel, H. (1995). Desarrollo de sistemas para la propagación masiva y conservación de germoplasma *in vitro* de 20 especies mexicanas de cactáceas. *Investigación y Ciencia*, 15(1), 36–39.
- Bidwell, R. (1992). *Fisiología Vegetal. A.G.T. Editor S.A.*, 6, 662.
- Borja, M. (2016). *Micropropagación y conservación in vitro de variedades españolas de olivo. Universidad de Málaga*.
- Cárdenas, R. (2021). Propagación *in vitro* de *Alternanthera ficoidea* (coqueta), extracción y pulverización de colorantes naturales por spray drying. 4(1), 1–23.
- Carranza, C., Trinidad, K., Reyes, H., Castillo, L., & Fortanelli, J. (2021). Efecto de extractos orgánicos naturales sobre la micropropagación *in vitro* de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews (Orchidaceae). *Biotecnia*, 23(1), 5–12.
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. INIA Las Brujas*.
- Chirino, Y., Silva, J., & Yépez, L. (2017). Desinfección y formación de callos en tres tipos de explantes de *Agave cocui* trelease. 2(15), 180–193.
- Clemente, M., & Fay, M. (1997). Aplicación de las técnicas de cultivo de tejidos en la propagación y conservación de especies amenazadas.
- Clements, S., Brako, L., & Zarucchi, J. (1994). Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. *Torrey Botanical Society*, 119(3), 316–332.
- Córdova, A., Cobos, M., Imán, S., & Castro, J. (2014). Un método eficiente para la inducción de callos *in vitro* en *Myrciaria dubia* ( Kunth ) Mc Vaugh " Camu Camu " An efficient method for *in vitro* callus induction in *Myrciaria dubia*. 5, 25–34.
- Correa, F., Augusto, F., Ferreira, L., & Michele, K. (2006). *Micropropagação de Erva-Mate: Efeito de Diferentes Épocas do Ano no Estabelecimento in vitro de Segmentos Nodais. Comunicado Técnico*, 163.
- Cuevas, M., & Salaverría, J. (2004). Control de la oxidación y la contaminación en el cultivo *in vitro* de fresa *Fragaria x ananassa* Duch. *Revista Científica UDO Agrícola*, 4(1), 21-26.
- De la Cruz, J., Gómez, J., Chanco, M., Carrillo, E., & Aucasime, L. (2020). Flora and vegetation of the province of Huamanga (Ayacucho-Peru). *Journal of*



- the Selva Andina Biosphere, 8(1), 3–18.
- De la Rosa, M., Domínguez, M., Pérez, M., & Pérez, E. (2012). Cultivo Y Propagación *in Vitro* De Cactáceas Amenazadas. Asociación Interciencia Venezuela, 37(2), 114–120.
- Díaz, M., Rodas, J., Gonzalez, L., & Ortiz, M. (2021). Control de la oxidación fenólica de segmentos nodales de *Handroanthus heptaphyllus* en condiciones *in vitro*. Cedamaz, 11(1), 1–5.
- Di Gioia, F., De Bellis, P., Mininni, C., Santamaria, P., & Serio, F. (2017). Evaluación fisicoquímica, agronómica y microbiológica de medios de cultivo alternativos para la producción de microvegetales rapini (*Brassica rapa* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture , 97 (4), 1212-1219.
- Druart, P. (1997). Optimization of culture media for *in vitro* rooting of *Malus domestica* Borkh. cv. Compact Spartan. In *Biologia Plantarum* (Vol. 39, Issue 1, pp. 67–77).
- Feijóo, M., Iglesias, I., & Rodríguez, J. (2000). Contribución a Los Estudios De Conservación De *Leucanthemum Gallaecicum* Rodr.-Oubiña & S. Ortiz. 19, 113–119.
- Fernández, C., Lezcano, M., & Segnana, L. (2016). Rooting *in vitro* of zygotic embryos of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd ex Mart. Colombia Forestal, 19(1), 67–78.
- Flores, G., Gil, I., Colinas, M., & Mata, R. (2011). Propagación *in vitro* de la orquídea *Brassia verrucosa* Bateman ex. Lindl. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 17(1), 5–8.
- Flores, J., Jurado, E., & Jiménez, J. (2008). Breaking seed dormancy in specially protected *Turbinicarpus lophophoroides* and *Turbinicarpus pseudopectinatus* (Cactaceae). Plant Species Biology, 23(1), 43–46.
- García, M. B., Batista, R. D., Rodríguez, S. M., Kosky, R. G., Malaurie, B., Hamon, P., & Demenorval, L. C. (2012). Optimización de un medio de cultivo para plantas micropropagadas de *Dioscorea alata* L. Revista Colombiana de Biotecnología, 13(2), 221–228.
- Gaspar, T., Keveks, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D., & Thorpe, T. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant*, 32(4), 272–289.
- George, E. (1996). Propagación de plantas por cultivo de tejidos. Parte 2: en la práctica. Exegetics Limited, 2, 7(13).
- Gnasekaran, P., Rathinam, X., Sinniah, U., & Subramaniam, S. (2010). A study on the use of organic additives on the protocorm-like bodies (PLBs) growth of *Phalaenopsis violacea* orchid. Journal of Phytology, 2(1), 29–33.
- Guevara, L., Arancibia, G., & Osinaga, E. (2013). Propagación *in vitro* de *Corryocactus pulquinensis* Cárdenas , *Cleistocactus candelilla* Cárdenas y *Echinopsis huotii*. In INIAF. Programa Manejo y Aprovechamiento Sostenible de Plantas Nativas y Endémicas (Cactaceae, Bromeliaceae y Crassulaceae), 77-80.
- Habiba, U., Reza, S., Lal Saha, M., Khan, M., & Hadiuzzaman, S. (2002). Endogenous bacterial contamination during *in vitro* culture of table banana: Identification and prevention. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 12(2), 117–124.
- Hasegawa, P., & Bressan, R. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. Nnu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 51, 463–499.
- Hoffmann, A., & Walter, H. (2004). Cactáceas en la flora silvestre de Chile, 307.
- Huamani, R. (2015). Cactáceas endémicas del cerro San Cristébal, distrito

- Pacaycasa, provincia de Huamanga. Ayacucho - 2013. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Huamani, R., De La Cruz, J., Chuchón, S., & Pelaez, F. (2020). Comunidades endémicas de Cactáceas en peligro de extinción. Una necesidad de conservación de los recursos naturales del distrito de Pacaycasa. Ayacucho-Perú. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 92–109.
- Huan, L., Takamura, T., & Tanaka, M. (2004). Callus formation and plant regeneration from callus through somatic embryo structures in *Cymbidium orchid*. *Plant Science*, 166(6), 1443–1449.
- Huanca, M. (2019). Establecimiento y propagación *in vitro* de *Neowerdermannia chilensis* subsp peruviana (Ritter) Ostolaza (Cactaceae) a partir del tejido areolar. Universidad Nacional Del Altiplano de Puno, 051, 363543.
- Huetteman, C., & Preece, J. (1994). Thidiazuron: una potente citoquinina para el cultivo de tejidos de plantas leñosas. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 39(3), 273–275.
- Izumi, Y., Okazawa, A., Bamba, T., Kobayashi, A., & Fukusaki, E. (2009). Development of a method for comprehensive and quantitative analysis of plant hormones by highly sensitive nanoflow liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 648(2), 215–225.
- Jadán, M., Basantez, K., Gómez, R., & Bermúdez, I. (2016). Establecimiento *in vitro* de brotes de *Vasconcellea helbornii* (Badillo) Badillo. *Biología Vegetal*, 16(2), 67–72.
- Jordan, M., & Casaretto, J. (2006). Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. *Fisiología Vegetal* (F.A. Squeo & L. Cardemil, Eds.), 15(4), 1–28.
- Kakimoto, T. (2003). Biosynthesis of cytokinins. *Journal of Plant Research*, 116(3), 233–239.
- Kamiya, Y. (2010). Plant Hormones: Versatile Regulators of Plant Growth and Development. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1).
- Kitsaki, C., Zygouraki, S., Ziobora, M., & Kintzios, S. (2004). *In vitro* germination, protocorm formation and plantlet development of mature versus immature seeds from several *Ophrys species* (Orchidaceae). *Plant Cell Reports*, 23(5), 284–290.
- Krikorian, A. (2015). Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación, 19.
- Lema, J., & Kulus, D. (2014). Micropropagation of cactia review. *Haseltonia*, 18(19), 46–63.
- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. (2010). *Biología y Mejoramiento Vegetal II*. *Biología y Mejoramiento Vegetal II*, 170–181.
- López, R., Murcia, C., López, P., & Valencia, J. (2010). Estandarización Del Protocolo De Desinfección De Disco De Hoja En La Inducción De Calogénesis De *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Okén (Lamiales: Boraginaceae) En Condiciones *in Vitro*. *Revista de Investigaciones Universidad Del Quindío*, 20(1), 120–125.
- Mállap, G., Vilca, N., Meléndez, J., Huaman, E., & Oliva, M. (2022). *In vitro* multiplication of yellow dragon fruit (*Hylocereus megalanthus*) from seedlings obtained *in vitro*. *Agronomy Mesoamerican*, 33(1).
- Martínez, J., & Molina, F. (2013). Mecanismos de propagación de una población de *Cylindropuntia fulgida* del Desierto Sonorense. 58, 36–48.
- Mashiguchi, K., Tanaka, K., Sakai, T., Sugawara, S., Kawaide, H., Natsume, M., Hanada, A., Yaeno, T., Shirasu, K., Yao, H., McSteen, P., Zhao, Y.,

- Hayashi, K., Kamiya, Y., & Kasahara, H. (2011). The main auxin biosynthesis pathway in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(45), 18512–18517.
- McCourt, P. (1999). Genetic analysis of hormone signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 50, 219–243.
- Méndez, E. (2011). Efecto de la temperatura y la luz sobre la germinación de semillas de *Trichocereus candicans* y *Trichocereus strigosus*. Temperature and light effect on seed germination of *Trichocereus candicans* and *Trichocereus strigosus*. *Boletín de La Sociedad Latinoamericana y Del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, 8(2), 16–19.
- Méndez, E., & Perez, S. (2008). Germinación de *Echinopsis leucantha* (Cactaceae), Efectos de temperatura y concentraciones de calcio. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 40(2), 91–96.
- Mendoza, G. (2007). Propagación *in vitro* de *Astrophytum ornatum* ( de canolle) Weber( Cactaceae), especie amenazada de extincion. Universidad Autónoma Del Estado de Hidalgo, 91.
- Menezes, L., Machado, M., Ballesta, P., Mora, F., Milaneze, M., & Aparecida, C. (2016). Organic supplement for *in vitro* propagation of the hybrid *Laeliocattleya* (Orchidaceae). *Idesia*, 34(1), 47–54.
- Miller, O., Skoog, F., Von, M., & Fuerte, F. (1955). Quinetina, un factor de división celular del ácido desoxirribonucleico. *Communications*, 77(4), 1392.
- MINAM. (2018). Listado de especies de flora silvestre CITES - Perú. Ministerio Del Ambiente, 1, 236.
- Montiel-Frausto, L., Enríquez del Valle, J., & Cisneros, A. (2016). Propagación *in vitro* de *Hylocereus monacanthus* (Lem.) Britton y Rose. *Biotechnología Vegetal*, 16(2), 113–123.
- Mora, Y. (2021). Morfogénesis *in vitro* de *Prosthechea vitellina* (Lindley) WE Higgins (Doctoral dissertation).
- Muñoz, M. (1999). Cultivo *in Vitro* (IVC) y conservación de plantas. Atlas en color de conservación y propagación de plantas. Manson publishing, 1.
- Ostolaza, C. (2015). Todos los Cactus del Perú.
- Ostolaza, C. (2012). 101 Cactus del Perú. In MINAM (Ministerio del Ambiente).
- O'Ryan, J., & Riffo, O. (2007). El compostaje y su utilización en agricultura: para pequeños (as) productores (as) de la agricultura familiar campesina. FIA.
- Perea, M. (2009). Cultivo de Tejidos Vegetales *in vitro*. In Universidad Nacional de Colombia, 9(19).
- Pérez, E., Santos, M., Ramírez, R., & Ochoa, N. (2015). Tissue culture of ornamental cacti. *Scientia Agricola*, 72(6), 540–561.
- Pérez, S., Leyva, N., Magallanes, M., Arce, A., & Méndez, A. (2016). Hongos contaminantes en el establecimiento *in vitro* de ápices de papa. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 84–88.
- Pompeu, G., Gratão, P., Vitorello, V., & Azevedo, R. (2008). Antioxidant isoenzyme responses to nickel-induced stress in tobacco cell suspension culture. *Scientia Agricola*, 65(5), 548–552.
- Quiala, E., Montalvo, G., & Matos, J. (2004). Empleo de la Biotecnología vegetal para la propagación de cactáceas amenazadas. *Reseña Bibliográfica Biotecnología Vegetal*, 4(4), 195–199.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Vibrations in Physical Systems*, 25(1), 329–334.

- Rademacher, W. (2017). Chemical Regulators of Gibberellin Status and Their Application in Plant Production. In Annual Plant Reviews online, 49.
- Ramírez, R., & Salazar, E. (2017). Propagación y conservación *in vitro* de siete especies de cactáceas del noreste del estado de Guanajuato. Acta Universitaria, 26, 78–82.
- Ramos-López, A. (2007). Estudio poblacional de *Mammillaria dixanthocentron* Backeb. ex Mottram en el valle de Cuicatlan, Oaxaca. Tesis de Maestría - UNAM, 1–75.
- Ramos, J. (2012). Avances de la Micropropagación *in vitro* de plantas leñosas. DED Goya SCJ - Micropropagación Vegetal, 71.
- Retes, J., Valadez, M., Pérez, M., & Pérez, E. (2017). Propagación *in vitro* de especies de *Echinocereus*, *Escontria*, *Mammillaria*, *Melocactus* y *Polaskia* (Cactaceae). Botanical Sciences, 16(81), 9.
- Richter, E., De Jesus, D., Muñoz, R., Do Lago, C., & Angnes, L. (2005). Determination of anions, cations, and sugars in coconut water by capillary electrophoresis. Journal of the Brazilian Chemical Society, 16(6), 1134–1139.
- Rivas, M. (1998). Cactáceas de Costa Rica. Google Libros. [https://books.google.com.pe/books?id=gBvonamTuloC&printsec=frontcover&dq=inauthor:%22Marta+Rivas+Rossi%22&hl=es&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=gBvonamTuloC&printsec=frontcover&dq=inauthor:%22Marta+Rivas+Rossi%22&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Roca, W., & Mroginski, L. (1991). Cultivo de Tejidos en la Agricultura Fundamentos y Aplicaciones. CIAT N° 05.
- Rocha, M. (2013). Micropropagación *in vitro* de cactus cola de rata *Aporocactus flagelliformis* (L). Universidad de Tolima, 8, 58.
- Rodríguez, C. (2006). Morfogénesis *in vitro* de nueve especies de interés botánico y ornamental pertenecientes a la familia Cactaceae. Tesis de Grado. Universidad Austral de Chile, 118.
- Rodríguez, C., García, A., & Morales, H. (2019). Latin American Journal of Science Education Propuesta de Estrategia Didáctica: “ México País Megadiverso .” Latin American Journal of Science Education, 12039, 1–9.
- Rodríguez, L., Daquinta, A., Vázquez, J., Fornet, E., & Cantillo, R. (2013). Propagación *in vitro* de *Escobaria cubensis* (Britton Rose) Hunts. Instituto Tecnológico de Santo Domingo, 33.
- Rojas, M., Vázquez, C., & Orozco, A. (1998). Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: An ecophysiological interpretation. Plant Ecology, 135(2), 207–214.
- Ruíz, A., & Ayala, L. (2012). Inducción de embriogénesis somática en cultivo *in vitro* de *Agave atrovirens* Karw. Instituto Politécnico Nacional, 1, 88.
- Ruvalcaba, D., Rojas, D., & Valencia, A. (2010). Propagación *in vitro* de *Coryphantha retusa* (Britton & Rose) un cactus endémico y amenazado. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 12(1), 139–143.
- Salazar, S., Amaya, A., & Barrientos, F. (2013). Evaluación de diferentes medios de cultivo *in vitro* en el desarrollo de híbridos de *Phalaenopsis* (Orchidaceae). Revista Colombiana de Biotecnología, 15(2), 97–105.
- Salazar, S., & Cancino, G. (2012). Evaluación del efecto de dos suplementos orgánicos en la germinación *in vitro* de orquídeas nativas de la provincia de Pamplona, Colombia. Rev. Colomb. Biotecnol., 14(1), 53–59.
- Sampedreño, A., Arzate, A., & Norman, T. (2020). Efecto de dos suplementos orgánicos y un sustrato orgánico en la respuesta de proliferación plbs y regeneración *in vitro* ande plántalas de *Phalaenopsis* sp. Universidad Autónoma Del Estado México, 1, 1–10.
- Sansberro, P., Rey, H., Luna, C., & Mroginski, L. (2001). Influencia de los

- agentes gelificantes en el cultivo de tejidos de *Ilex paraguariensis*, 3400, 453–457.
- Santner, A., Calderon, L., & Estelle, M. (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chemical Biology*, 5(5), 301–307.
- Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T., & Maekawa, A. (1996). Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Food Chemistry*, 57(2), 299–304.
- Sarabia, G., Zamudio, A., Estrada, A., & Arellano, A. (2016). Efecto de las fitohormonas en la regeneración *in vitro* de *Turbinicarpus gielsdorffianus* (Werderm.) V. John & Ríha, una cactácea endémica de San Luis Potosí en vía de extinción. *Georgina. Memorias Del Concurso Lasallista de Investigacion, Desarrollo e Innovacion*, 3(2448–5160), 9–14.
- Seeman, P., Rodríguez, C., & Jara, G. (2007). Cultivo *in vitro* de cactáceas con fines de conservación *ex situ*. *Agro Sur*, 35(2), 24–26.
- Sharp, W., Evans, D., Ammirato, P., & Yamada, Y. (1984). Handbook of Plant Cell Culture. Manual de Cultivo de Células Vegetales, 37(5500851), 1828.
- Skoog, F., & Tsui, C. (1948). Chemical Control of Growth and Bud Formation in Tobacco Stem Segments and Callus Cultured *in Vitro*. *American Journal of Botany*, 35(10), 782.
- Solís-Zanotelli, F. Y., Hidalgo-Contreras, J. V., & Baltazar-Bernal, O. (2022). Crecimiento *ex vitro* de plántulas de *Lycaste aromatica* (GRAHAM) LINDL. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 45(3), 341-341.
- Soria, D., López, A., & Olguín, L. (2013a). Propagación *in vitro* de *Mammillaria schiedeana* (Cactaceae), subespecie endémica Y amenazada de extinción de la Barranca de Metztlán, Hidalgo. *Estudios Científicos En El Estado de Hidalgo y Zonas Aledañas.*, 1(1), 121–128.
- Suárez, I. (2020). Cultivo De Tejidos Vegetales. In Fondo editorial, Universidad de Cordoba.
- Suárez, I., & Salgado, J. (2008). Propagación *in vitro* de *Stevia rebaudiana* Bert. (Asteraceae-Eupatorieae) a través de organogénesis. *Temas Agrarios*, 13(1), 40–48.
- Tellez, J., López, M., Hernández, E., Livera, M., Estrada, A., & Zavaleta, H. (2020). Regeneración *in vitro* de *Echinopsis chamaecereus* H. Friedrich & Glaetzle cv. 'Aurea.' *Revista Agro Ciencia de Mexico*, 3, 2–3.
- Thejaswini, R., & Narasimhan, S. (2017). Los aditivos orgánicos indefinidos estimulan la germinación de semillas *in vitro* de *Dendrobium ovatum* (Willd.) Kraenzl, una orquídea medicinal. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 6(1), 29–31.
- Toribio, H. (2005). Comportamiento de explantes de agave pulquero (*Agave atrovirens*) en la interacción de dos reguladores de crecimiento. Instituto Politécnico Nacional, I.
- Trevizan, J., & Baltierra, H. (2018). Evaluación de propagación asexual en dos especies de cactus: *Corryocactus brevistylus* K. Schum. y *Oreocereus leucotrichus* (Philippi) Wagenknecht, endémicos, pertenecientes al sector de precordillera de la XV región de Arica y Parinacota, Chile. *Idesia (Arica)*, ahead.
- Ulloa, C., Zarucchi, J., & León, B. (2004). Diez años de adiciones a la flora del Perú. In Arnaldoa, 157–159.
- Van Staden, J., Fennell, C., & Taylor, N. (2006). Plant stress *in vitro*: The role of phytohormones. *Acta Horticulturae*, 725 I, 55–61.
- Vargas, I. (2020). Comparación de diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) en la fase de multiplicación de pitahaya roja

- (*Hylocereus undatus*), en el laboratorio de cultivo de tejidos *In Vitro*, FCA-UNASAM, distrito de Independencia, provincia de Huaraz, Ancash. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, 63.
- Velázquez, V., Quijano, J., & Rodríguez, N. (2016). Análisis de diferentes sustratos en la germinación y multiplicación *in vitro* de orquídeas silvestres del Estado de Campeche. *Revista Del Centro de Graduados e Investigación*, 31(63), 27–31.
- Villalobos, M., & Thorpe, T. (1991). Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In *Ciat, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza*, 127-142.
- Villanueva, R. M. (2016). Germinación de tres especies de cactáceas endémicas de México en condiciones asépticas Germination of three species of endemic cacti of Mexico in aseptical conditions. 16(1), 1–16.
- Villavicencio, E., Arellano, G., & Belmontes, V. (2020). Micropropagación del cactus de pequeño órgano sacasil (*Echinocereus poselgeri* Lem.) (Fam. : Cactaceae). *ISHS Acta Horticulturae*, 1288, 1.
- Villavicencio, E., Cano, A., & Juárez, A. (2009). Micropropagación y producción de plantas del bonete o birrete de obispo, cactacea ornamental amenazada de extinción del desierto chihuahuense. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*, 39(1), 1–38.
- Villavicencio, E., Gonzáles, A., & Carranza, M. (2012). Micropropagación de *Epithelantha micromeris* (Engelm.) FAC Weber ex Britt. & Rose cactácea ornamental y recurso fitogenético del desierto chihuahuense. In *Rev. mex. de cienc. forestales*, 2(14).
- Vyas, S., Guha, S., Bhattacharya, M., & Rao, I. (2009). Rapid regeneration of plants of *Dendrobium lituiflorum* Lindl. (Orchidaceae) by using banana extract. *Scientia Horticulturae*, 121(1), 32–37.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Constancia de identificación de la especie *Corryocactus ayacuchoensis* "puchjuli". Ayacucho – 2022.

### **CONSTANCIA**

**LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**


Que, la Bach. en Ciencias Biológicas, especialidad Biotecnología, **Srta. Thalia Katy, GOMEZ AYALA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CACTACEAE
GENERO	:	<i>Corryocactus</i>
ESPECIE	:	<b><i>Corryocactus ayacuchoensis</i></b> <b><i>Rauh &amp; Backeb.</i></b>
N.V.	:	"puchjuli"

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 17 de Enero del 2022

  
**LAURA AUCASIME MEDINA**  
**BIÓLOGA**  
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII



**Anexo 2.** Componentes de los stocks en la formulación del medio Murashigue y Skoog. Ayacucho – 2021.

<b>STOCK A (sales)</b>	
<b>Reactivo</b>	<b>g/1000 ml H<sub>2</sub>O</b>
KNO <sub>3</sub>	19,0000
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	16,5000
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	4,4000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,7000
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,1690
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,0614
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,0620
KI	0,0083
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,0025
CoSO <sub>4</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,0025
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,0025
<b>STOCK B (Magnesio)</b>	
<b>Reactivo</b>	<b>g/100 ml H<sub>2</sub>O</b>
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3,7000
<b>STOCK C (hierro)</b>	
<b>Reactivo</b>	<b>g/100 ml H<sub>2</sub>O</b>
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,7460
Na <sub>2</sub> EDTA	0,5560
<b>STOCK D (vitaminas)</b>	
<b>Reactivo</b>	<b>mg/50 ml H<sub>2</sub>O</b>
Tiamina HCl	0,1000
Piridoxina	0,5000
Ácido nicotínico	0,5000
Glicina	2,0000

Fuente: Sharp et al., 1984

**Anexo 3.** Componentes para litro de medio Murashige y Skoog. Ayacucho-2021.

<b>Componentes</b>	<b>Volumen</b>
Stock A	100 ml
Stock B	10 ml
Stock C	5 ml
Stock D	1 ml
Pantotenato de calcio	2 ml
Sucrosa	30 g
Myo-inositol	0,1 g
Agar-agar	7,0 g

Fuente: Sharp et al., 1984

**Anexo 4.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de contaminación de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 7 días de introducción. Ayacucho - 2021.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	17	10610,2	624,13	5,47	< 0,001
Concentración	2	3720,1	1860,06	16,3	< 0,001
Explante	1	4213,5	4213,5	36,92	< 0,001
Tiempo	2	109,8	54,89	0,48	0,622
Interacciones de 2 términos	8	2395,2	299,4	2,62	0,023
Concentración *explante	2	1158,1	579,06	5,07	0,011
Concentración *tiempo	4	901,1	225,28	1,97	0,119
Explante *tiempo	2	336	168	1,47	0,243
Interacciones de 3 términos	4	171,6	42,89	0,38	0,824
Concentración*explante*tiempo	4	171,6	42,89	0,38	0,824
Error	36	4108,7	114,13		
Total	53	14718,8			

**Anexo 5.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de oxidación de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 7 días de introducción. Ayacucho - 2021.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	17	11209,6	659,4	23,02	< 0,001
Concentración	2	149,4	74,7	2,61	0,088
Explante	1	10004,2	10004,2	349,21	< 0,001
Tiempo	2	304,7	152,4	5,32	0,009
Interacciones de 2 términos	8	622,2	77,8	2,71	0,019
Concentración *explante	2	206,3	103,2	3,6	0,038
Concentración *tiempo	4	140,4	35,1	1,23	0,317
Explante *tiempo	2	275,4	137,7	4,81	0,014
Interacciones de 3 términos	4	129,2	32,3	1,13	0,359
Concentración *explante*tiempo	4	129,2	32,3	1,13	0,359
Error	36	1031,3	28,6		
Total	53	12241			

**Anexo 6.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de viabilidad de explantes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 7 días de introducción. Ayacucho – 2021.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Modelo	17	32528,6	1913,4	14,09	< 0,001
Concentración	2	2761	1380,5	10,17	< 0,001
Explante	1	27202,7	27202,7	200,32	< 0,001
Tiempo	2	498,9	249,5	1,84	0,174
Interacciones de 2 términos	8	1848,2	231	1,7	0,132
Concentración *explante	2	565,8	282,9	2,08	0,139
Concentración *tiempo	4	1215	303,7	2,24	0,084
Explante *tiempo	2	67,4	33,7	0,25	0,781
Interacciones de 3 términos	4	217,8	54,4	0,4	0,807
Concentración*explante*tiempo	4	217,8	54,4	0,4	0,807
Error	36	4888,7	135,8		
Total	53	37417,3			

**Anexo 7.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de germinación de semillas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2021.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamiento	2	8186,5	4093,27	72,53	< 0,001
Error	12	677,2	56,43		
Total	14	8863,7			

**Anexo 8.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable número de brotes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamiento	13	9,69	0,7454	2,3	0,021
Error	42	13,611	0,3241		
Total	55	23,302			

**Anexo 9.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable tamaño de brotes de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamiento	13	1,487	0,11435	2,36	0,018
Error	42	2,031	0,04836		
Total	55	3,518			



**Anexo 10.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable número de raíces de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamiento	13	19,49	1,4994	1,74	0,088
Error	42	36,28	0,8638		
Total	55	55,77			

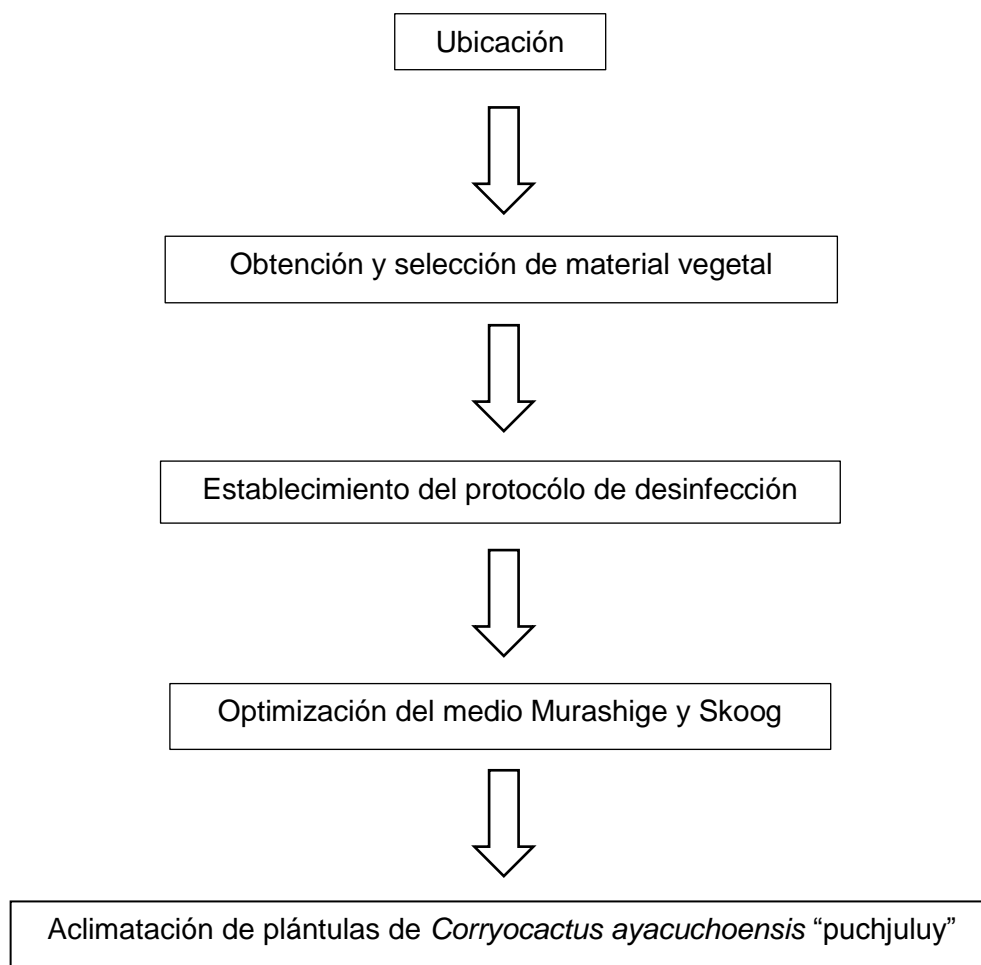
**Anexo 11.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable longitud de raíces de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2022.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamiento	13	1,246	0,09581	1,96	0,0486
Error	42	2,053	0,04887		
Total	55	3,298			

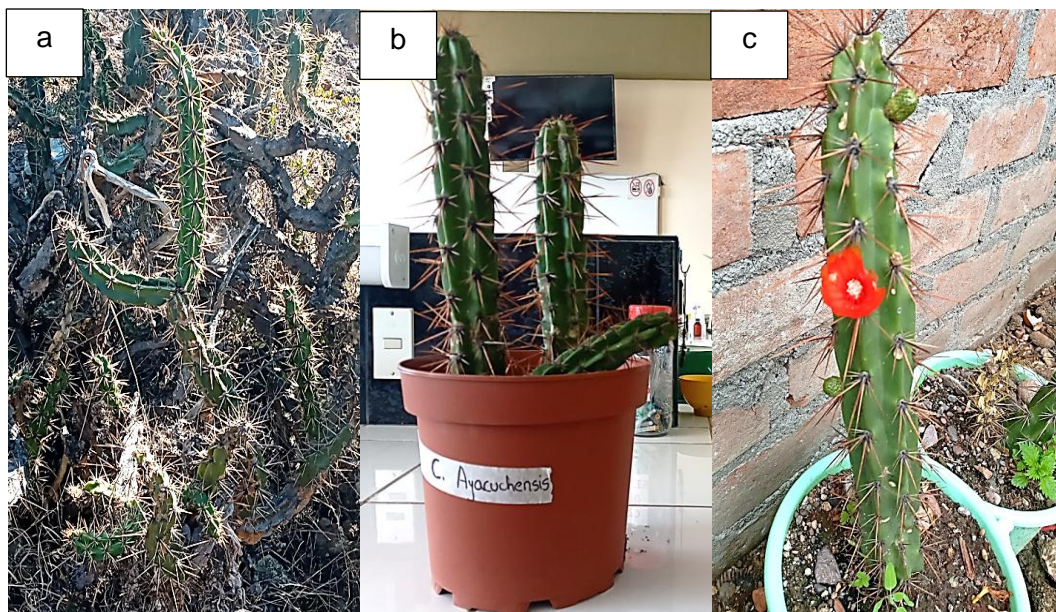
**Anexo 12.** Prueba estadística ANOVA de los diferentes tratamientos de la variable porcentaje de supervivencia de las plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 50 días de aclimatación. Ayacucho – 2022.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
Tratamiento	6	19997	3332,9	13,26	< 0,001
Error	14	3518	251,3		
Total	20	23515			

**Anexo 13.** Flujograma del procedimiento de la introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”. Ayacucho – 2022.



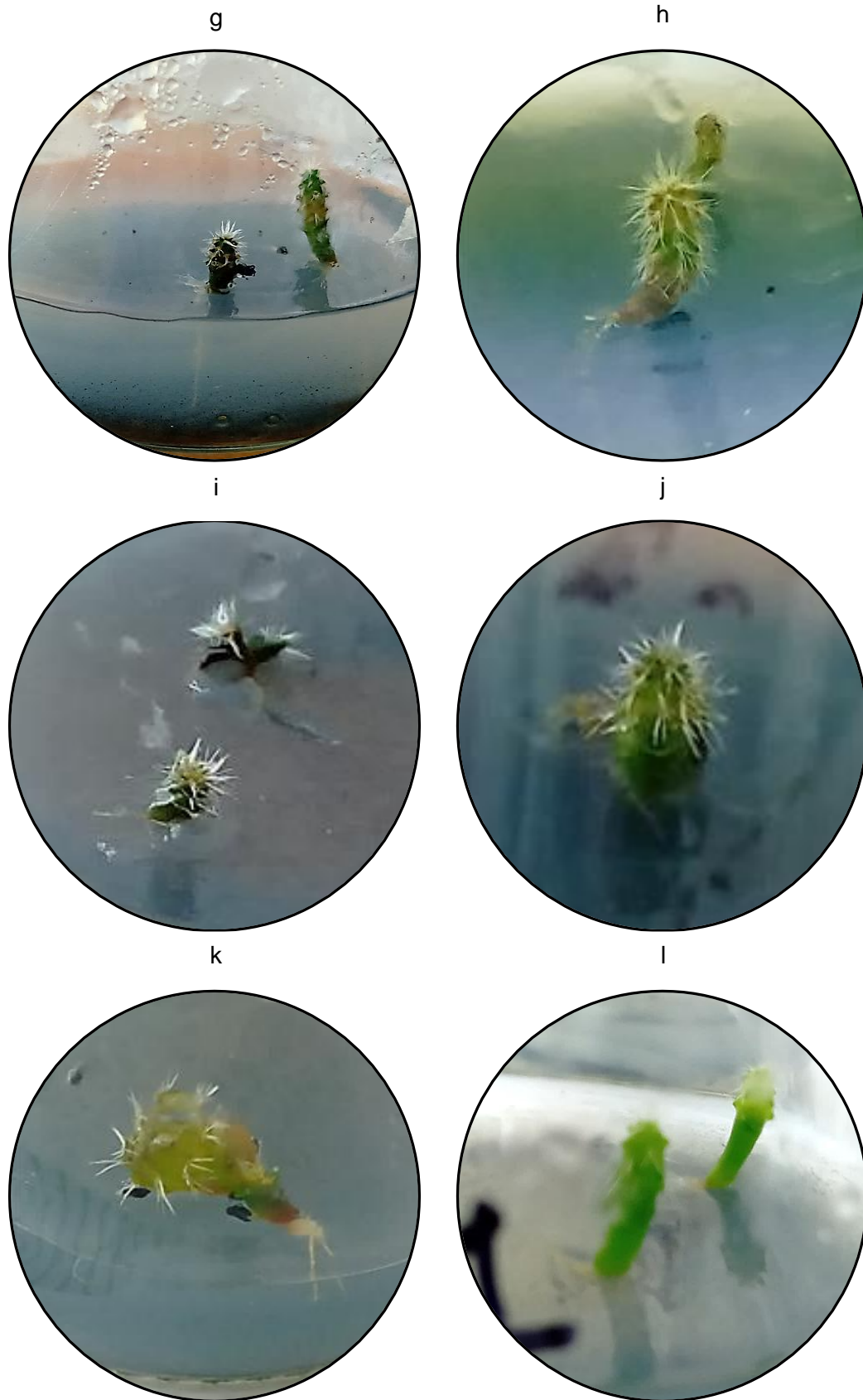
**Anexo 14.** Planta madre de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, en el distrito de Pacaycasa, departamento de Ayacucho. Ayacucho – 2021.



**Anexo 15.** Material vegetal de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli” (areolas y semillas), seleccionadas para la introducción *in vitro*. Ayacucho – 2021.



**Anexo 16.** Plántulas *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 40 días de introducción. Ayacucho – 2021.



**Anexo 17.** Plántulas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, listas para ser colocadas en el sustrato para la etapa de la aclimatación. Ayacucho – 2022.





**Anexo 18.** Plantas de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, a los 50 días de aclimatación. Ayacucho – 2022.



### Anexo 19. Matriz de consistencia.

**Título** : Introducción *in vitro* de *Corryocactus ayacuchoensis* “puchjuli”, con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético, Ayacucho 2021.

**Autor** : Thalia Katy Gómez Ayala

**Asesora:** Paula García Godos Alcázar

PROBLEMA	OBJETIVO	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Se logrará Introducir <i>in vitro</i> <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> “puchjuli”, con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético?	<p><b>Objetivo general:</b> Introducir <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético</p> <p><b>Objetivo específico:</b> 1.1. Establecer el protocolo de desinfección utilizando diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio. 1.2. Optimizar el medio de cultivo para la introducción <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i>. 1.3. Evaluar el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i>. 1.4. Aclimatar las plántulas <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i>.</p>	<p>1. Antecedentes 2. Compuestos orgánicos y fitohormonas 3. Cultivo de tejidos vegetales 4. Micropropagación 5. Cactáceas endémicas en la provincia de Ayacucho.</p>	<p>Se logrará la introducción <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> con compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético.</p>	<p><b>Variables</b> <b>V. Independiente:</b> Compuestos orgánicos, 6 bencilaminopurina y ácido naftalenacético <b>Indicadores:</b> _ Agua de coco _ Jugo de tomate _ Jugo de plátano _ Jugo de piña _ Bencilaminopurina _ Ácido naftalenacético <b>V. Dependiente:</b> Introducción <i>in vitro</i> de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> <b>Indicadores:</b> _ Porcentaje de viabilidad de los explantes. _ Porcentaje de contaminación _ Porcentaje de oxidación _ Número de brotes _ Tamaño de brotes _ Número de raíces _ Longitud de raíces _ Porcentaje de aclimatación.</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Aplicada <b>Diseño de investigación:</b> Experimental <b>Población:</b> Cactáceas endémicas del centro comunal Compañía, del distrito de Pacaycasa, departamento de Ayacucho. <b>Muestra:</b> 10 plantas de <i>Corryocactus ayacuchoensis</i> <b>Técnica:</b> • Introducción de cultivos de tejidos vegetales • Micropropagación • Aclimatación <i>in vivo</i> <b>Análisis estadístico:</b> Se empleará la prueba de ANOVA (<math>\alpha=0,05</math>) y en caso de presentar una significancia (<math>p&lt;0,05</math>) se procederá a realizar las comparaciones de media mediante la prueba de Tukey con la finalidad de identificar diferencias. Los análisis estadísticos señalados, será realizado con el Software Minitab 17.</p>