

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Efecto de ácido indolacético y bencilaminopurina
en la germinación y desarrollo *in vitro* de
Epidendrum dichotomum C.Presl. Ayacucho-2021**

Tesis para optar el título profesional de:
Biólogo, Especialidad: Ecología y Recursos Naturales

Presentado por:
Bach. Jhon Brayan Noa Huayra

Asesor:
Gilmar Peña Rojas

Ayacucho - Perú

2024

A mi madre y tíos, quienes
contribuyeron en mi crecimiento y
desarrollo, para lograr quien soy
ahora.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, y la Facultad de Ciencias Biológicas por brindarme las bases para formarme como un profesional digno y responsable.

A mi asesor Dr. Gilmar Peña Rojas, quien con paciencia y entregada colaboró en las diferentes etapas de la elaboración del presente trabajo de investigación.

Al Ing. Heric Hágsater y el herbario AMO por el apoyo brindado para la identificación del espécimen utilizado.

A todos los docentes de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por haber contribuido a lo largo de mi formación profesional.

Finalmente, a mis amigos Jhonatan Onocc Flores, Maily B. Jose Conde y Marleny Rojas Bellido, quienes me brindaron su apoyo incondicional durante las largas jornadas de trabajo y toma de datos que hicieron posible la presente investigación.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE	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
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	4
2.2. Marco conceptual	6
2.3. Bases teóricas	7
2.3.1. Orquídeas	7
2.3.2. Cultivo <i>in vitro</i>	12
2.3.3. Fitohormonas y reguladores de crecimiento.	13
2.4. Marco legal	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Ubicación	21
3.1.1. Ubicación política	21
3.1.2. Ubicación geográfica	21
3.3. Población y muestra	22
3.3.1. Población	22
3.3.2. Muestra	22
3.4. Tipo de investigación	22
3.5. Metodología y recolección de datos	22
3.5.1. Recolección y selección de material vegetal	22
3.5.2. Desinfección y siembra	23
3.5.3. Micropropagación.	24
3.5.4. Recolección de datos	25
3.6. Análisis estadísticos	25
IV. RESULTADOS	27

V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	41
VII.	RECOMENDACIONES	43
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
	ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Ubicación política del centro poblado de Tutumbaru y el Laboratorio de Biología Celular y Molecular.	21
Tabla 2. Ubicación geográfica del centro poblado de Tutumbaru y el Laboratorio de Biología Celular y Molecular.	21
Tabla 3. Diseño experimental para la germinación y desarrollo <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl.	24

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Estructuras de la flor de una <i>Sobralia</i> sp. Fuente propia	9
Figura 2.	Mapa de ubicación geográfica de la localidad de Tutumbaru.	22
Figura 3.	Germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a 63 días después de la siembra. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.	28
Figura 4.	Inhibición de la formación de órganos axiales en la germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl., 63 días de la siembra, Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.	29
Figura 5.	Formación de callos en la germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a 63 días de la siembra, Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.	30
Figura 6.	Tiempo de germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.	31
Figura 7.	Crecimiento <i>in vitro</i> de plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a 105 días de la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.	32
Figura 8.	Crecimiento <i>in vitro</i> de plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. durante 105 días posterior a la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.	33
Figura 9.	Número de hojas de plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a 105 días de la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.	34
Figura 10.	Número de raíces en plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a 105 días de la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.	35

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Matriz de consistencia.	53
Anexo 2. Lamina botánica de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl.	54
Anexo 3. Tiempo de germinación en <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl.	55
Anexo 4. Porcentaje de germinación de semillas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl., a las 9 semanas después de la siembra.	56
Anexo 5. Porcentaje de semillas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. que no lograron alcanzar la formación de órganos axiales, a las 9 semanas después de la siembra.	57
Anexo 6. Porcentaje de semillas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. que llegaron a formar callos, a las 9 semanas después de la siembra.	58
Anexo 7. Crecimiento total en plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a los 105 días, posterior a la micropropagación.	59
Anexo 8. Número de hojas desarrolladas en plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a los 105 días, posterior a la micropropagación.	60
Anexo 9. Número de raíces desarrolladas en plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a los 105 días, posterior a la micropropagación.	61
Anexo 10. Germinación de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl.	62
Anexo 11. Semillas germinadas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. a 7 semanas posterior de la siembra.	63
Anexo 12. Desarrollo de las plántulas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. sometida a las fitohormas AIA y BAP.	64
Anexo 13. Protocolo para la desinfección y siembra de semillas de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. en medio de cultivo <i>in vitro</i> .	65
Anexo 14. Autorización con fines de investigación en flora silvestre emitido por el SERFOR.	66
Anexo 15. Certificación de especie <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl.	68
Anexo 16. Constancia de depósito Herbario San Cristóbal de Huamanga	69

RESUMEN

La propagación *in vitro* de orquídeas se presenta como una estrategia crucial para la conservación y recuperación de diversas especies que enfrentan el riesgo de desaparecer de los ecosistemas naturales. Esta técnica no solo permite resguardar la diversidad biológica, sino también facilita un aprovechamiento sostenible de las poblaciones silvestres. Con el objetivo de evaluar los efectos del AIA y BAP durante la germinación y desarrollo de *Epidendrum dichotomum* C.Presl., se realizó la propagación *in vitro* de esta especie, que dio inicio con la colecta de semillas en la localidad de Tutumbaru, distrito de Sivia del departamento de Ayacucho y posteriormente cultivadas en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular. La siembra y micropropagación se realizó utilizando el medio Murashige y Skoog (MS) con 30 g/L de sacarosa, 7 g/L de agar y a un pH de a 5,7. Se utilizaron los tratamientos T1 (MS + 0,5 mg/L AIA), T2 (MS + 1,0 mg/L AIA), T3 (MS + 0,5 mg/L BAP), T4 (MS + 1,0 mg/L BAP) y control T0 (MS), cultivados en una cámara de incubación a una temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. En esta investigación se evidencio que el porcentaje y tiempo de germinación de las semillas de *E. dichotomum* C.Presl. no se ve afectado por la presencia del AIA, sin embargo, la BAP limitó el porcentaje de germinación a menos del 50% y prolongo el tiempo hasta las 13 semanas; por otro lado, durante el desarrollo el AIA fomento mayor crecimiento de raíces, logrando un promedio 4,4 raíces por plántula, mientras la BAP inhibió el crecimiento y desarrollo adecuado.

Palabras clave: ácido indolacético, bencilaminopurina, germinación, desarrollo, *Epidendrum dichotomum* C.Presl.

I. INTRODUCCIÓN

Perú considerado país megadiverso, con un aproximado de 2600 a 3000 especies de orquídeas silvestres distribuidas a lo largo y ancho del territorio nacional, presentes en la mayoría de los 36 ecosistemas continentales (Álvarez et al., 2015; Ministerio del Ambiente, 2021). Dentro de estas, las Epidendrum vienen a ser el género con mayor diversidad, con un aproximado de 1400 especies que se caracterizan por presentar en su mayoría tallos cilíndricos, rara vez pseudobulbos, hojas frecuentemente dísticas, flores con la columna fusionado al labelo y anteras en su mayoría en número de cuatro, con polinias de tipo sésiles (Gutiérrez et al., 2019). En las orquídeas se pueden encontrar múltiples flores muy llamativas y vistosas, con un gran atractivo que le otorga un alto valor ornamental; sin embargo, su gran diversidad es opuesto a su escasa abundancia y gran vulnerabilidad al cambio climático (Ministerio de Agricultura y Riego, 2018).

En la actualidad múltiples factores vienen diezmando las poblaciones de algunas orquídeas. Entre las principales amenazas encontramos el cambio de uso del suelo, sobrepastoreo, tala selectiva, sobreexplotación de sus recursos, quema de bosques y la extracción de individuos en etapa fértil para su comercio; esto afecta en gran medida su reproducción y diseminación dentro de su habitat (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2020; Ministerio del Ambiente, 2019); otra limitante viene a ser la baja tasa de supervivencia de las semillas de orquídea en medio natural (Mechaca, 2011). Por todo lo anterior y debido a su alta demanda, a nivel nacional e internacional, las orquídeas se encuentran dentro de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre "CITES" (Álvarez et al., 2015).

Es en este punto donde nace la importancia de implementar y fomentar iniciativas de conservación desde enfoques técnicos, políticos, científicos y de gestión a nivel nacional; como el Plan Nacional de Conservación de las Orquídeas Amenazadas

del Perú (2020), cuyo objetivo viene a ser la conservación de poblaciones de orquídeas que se encuentran amenazadas mediante el fortalecimiento de las habilidades técnicas de los actores involucrados en su gestión, manejo y uso sostenible (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2020).

La propagación *in vitro* es de gran utilidad para la conservación de germoplasma en múltiples especies vegetales que tienen ciclos de vida largo y/o producen semillas no ortodoxas (Fernandez et al., 2019). El cultivo *in vitro* presenta múltiples soluciones a los diversos problemas que conlleva la propagación de orquídeas, como por ejemplo el largo periodo de maduración que requieren muchas especies para lograr su floración, que con la modificación de los factores ambientales y químicos se logra obtener una floración en 8 meses en comparación de los 2 a 3 años que se requiere en medio natural (Pedraza, 2017). Así mismo, permite el aprovechamiento sostenible de múltiples especies silvestres para alcanzar beneficios económicos sin afectar las poblaciones naturales, siendo indispensable para lograr una alta tasa de supervivencia a partir de la germinación en condiciones controladas (Harris et al., 2021).

Objetivo General

Evaluar el efecto de las concentraciones de AIA y BAP en la germinación y propagación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.

Objetivos Específicos

- Determinar el efecto del AIA en el tiempo y porcentaje de germinación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.
- Determinar el efecto del BAP en el tiempo y porcentaje de germinación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.
- Determinar el efecto del AIA en la propagación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.
- Determinar el efecto del BAP en la propagación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Parra y Moscoso (2022) durante la germinación y el desarrollo in vitro de semillas de *Epidendrum secundum* en dos medios de cultivo diferentes: agar carboximetilcelulosa (CMC) y medio comercial Murashige y Skoog (MS), obtuvieron como resultado una adecuada germinación y desarrollo en el medio MS. También lograron un alto porcentaje de germinación en ambos medios de cultivo, determinando que la siembra adecuada de las semillas de *Epidendrum secundum* debe llevarse a cabo empleando una combinación de ambos sustratos, otorgando una proporción más elevada de M&S en comparación con el CMC.

Mamani et al. (2022)

llevaron a cabo pruebas de germinación de *Epidendrum secundum* en medios alternativos con sales de cultivo hidropónico (macro y micronutrientes), suplementados con un 10% y 20% de agua de coco (AC) y utilizando distintos gelificantes (gelrite, agar y carragenina). Las semillas fueron sometidas a desinfección mediante una solución de NaClO al 0,5% durante un período de 15 minutos. Posteriormente, se cultivaron en cámaras de crecimiento durante 105 días, manteniendo una temperatura constante de 25°C y un fotoperiodo de 16 horas de luz seguidas de 8 horas de oscuridad. Evaluaron el porcentaje de germinación, la mortalidad y las fases de desarrollo durante la germinación. Como resultado observaron una germinación del 85,8% en el medio con gelrite, sales hidropónicas y la adición de 20% de AC, siendo el mejor resultado un 86,4% de germinación con 20% de AC, a diferencia de un 10% de AC donde se obtuvo el 78,1%. No obstante, con al añadir carragenina, la mortalidad de los protocormos germinados fue de 1,8%.

Delgado (2019) observó que el uso de hipoclorito de sodio ayuda en la escarificación de las semillas, facilitando el ingreso de solución de tetrazolio en las semillas de *Epidendrum secundum* y *Epidendrum ibaguense*, siendo en esta última los resultados menos favorables; así mismo, a mayor concentración de hipoclorito el porcentaje de germinación se reduce considerablemente; por tanto, la concentración optima es de un 0,5% de hipoclorito de sodio. Después de 45 días de seguimiento observó que el porcentaje de germinación por cultivo *in vitro* en medio MS a 22°C para ambas especies resultó ser muy bajo.

Pedroza (2009) durante el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* bajo la interacción de 3 factores: bencil aminopurina (0,0; 0,5; 1,0 mg L⁻¹), ácido indol acético (0,0; 0,5; 1,0 mg L⁻¹) y carbón activado (0,0; 0,5; 1,0% (w/v)), en un medio de cultivo enriquecido con 3% sacarosa, y el Myo inositol al 0,1 g L⁻¹. observó que la interacción del carbón activado a concentraciones de 0,5 y 1,0% con 0,5 mg/L de AIA en protocormos de *E. elongatum* bajo condiciones *in vitro* es positivo, por otro lado, la interacción de la BAP a concentraciones de 0,5 mg L⁻¹ y 1,0 mg L⁻¹, no mostró resultados favorables para el desarrollo de los protocormos.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Flores (2019) reportó sobre los efectos del medio de cultivo MS enriquecido con agua de coco (AC) y plátano verde (PL), en la micropropagación de *Epidendrum macrocarpum*, *Prosthechea crassilabia* y *Sobralia setigera* en condiciones de cultivo *in vitro*. Para la germinación describió 6 etapas: Imbibición, ruptura de la testa, protocormo inicial, primordio foliar, desarrollo de foliar y desarrollo de radicular. En el crecimiento del explante, se evaluaron el tamaño, el número de hojas y las raíces, finalmente realizó la aclimatación en invernadero por 60 días. Observó que *E. macrocarpum* a los 273 días en medio de cultivo con PL logró el mayor rendimiento de hojas, donde se obtuvo un promedio de 4,25 hojas con un tamaño de 1,17 cm, y 2,48 raíces con un tamaño promedio de 1,01 cm por plántula. Por el contrario, el AC logró mayores resultados para *Sobralia setigera*, con un promedio de 3,21 hojas de 0,68 cm de tamaño, y 0,59 raíces de 0,45 cm de tamaño por plántula. Finalmente, *Prosthechea crassilabia* presentó mejores resultados en AC, logrando un promedio de 2,81 hojas de 0,68 cm de tamaño, y 2,21 raíces con un tamaño promedio de 0,47 cm por plántula. Durante la aclimatación logró en promedio 64% en la tasa de supervivencia para las 3 especies durante los 60 días que duró el proceso.

Chacón, (2017) evaluó la germinación asimbiótica en cuatro especies de orquídeas: *Epidendrum secundum*, *Epidendrum spilatum*, *Bletia catenulata* y *Rodriguezia longifolia*. Para ello utilizó medio de cultivo (MS) suplementado con agua de coco, pulpa de piña y pulpa de plátano. Para la germinación consideró cinco etapas diferenciadas: imbibición, modificación de la coloración por la transformación de protoplastidios en cloroplastos, comienzo de la división celular, formación del protocormo y desarrollo de los órganos vegetativos. Determinó que el medio MS suplementado con pulpa de piña favorece a la germinación de *Rodriguezia longifolia*, *Bletia catenulata* y *Epidendrum spilatum*, con promedio de 12; 8 y 11 semanas respectivamente. Por otro lado, *Epidendrum secundum* logró sus mejores resultados al germinar en 5 semanas en el medio suplementado con plátano.

González y Cueva (2014) en el cultivo de *Cyrtorchilum loxense* evaluaron el efecto de MS con tres niveles de ácido naftalenoacético (NAA 2; 1 y 0,5 mg L⁻¹) y 6-bencilaminopurina (BAP 0,5 mg L⁻¹); y tres regímenes fotoperiódicos (24/0, 16/8, 8/16 h) en medio MS, con y sin reguladores del crecimiento vegetal. No observaron una diferencia significativa en la inducción de brotes en medios con o sin reguladores del crecimiento de las plantas, y todos los fotoperíodos probados. El mayor crecimiento, de 1,2 cm, se observó en plántulas cultivadas en medio sin regulador de crecimiento con un fotoperíodo de 16/8. También la formación de brotes y raíces fue mejor en esta especie en ausencia de reguladores del crecimiento de las plantas. Finalmente, concluyeron que probablemente esta respuesta se deba a los niveles de hormonas endógenas en los tejidos o al tipo y las concentraciones utilizadas fueron demasiado bajas para inducir respuestas morfogenéticas positivas.

Panduro (2005) En la propagación de *Phragmipedium kovachii* formulo 3 medios de cultivo *in Vitro* modificados del MS para lograr su germinación, multiplicación y enraizamiento. Llegó a observar la germinación 30 días después de la siembra en el medio M1, la formación de protocormo comenzó a partir de los 60 días. A las 20 semanas después de la siembra en el medio de desarrollo (multiplicación), las plántulas presentaron un promedio de 3,5 hojas y una altura de 6,44 mm. Mientras que posterior a las 40 semanas de la siembra en el medio de enraizamiento las plántulas mostraron resultados positivos.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento vegetal son compuestos de origen sintético u obtenidos de un organismo animal, vegetal, fúngico o bacteriano, estos son parecidos a las fitohormonas y desempeñan un rol importante en la regulación de los procesos bioquímicos a nivel celular en los organismos vegetales (Alcantara et al., 2019).

2.2.2. ácido indolacético (AIA)

El Ácido Indolacético (AIA) representa la auxina natural más prominente y reconocida, participando en diversas funciones fisiológicas que incluyen el alargamiento y la división celular, la diferenciación de tejidos, el fototropismo, el gravitropismo, y desempeñando un papel en las respuestas inmunitarias. (Vega et al., 2016).

2.2.3. 6-bencilaminopurina (BAP)

la 6-bencilaminopurina (BAP) es una citoquinina sintética que estimula y promueve la división celular y con ello produce efectos en el crecimiento y desarrollo de plantas, esta característica hace de la BAP la citoquinina más utilizada en la inducción de yemas axilares (Gil et al., 2019).

2.2.4. Germinación

La germinación es el procedimiento mediante el cual se inicia la generación de hormonas que marcan el inicio del crecimiento y desarrollo de una planta, desencadenado al exponer una semilla a condiciones medioambientales como la temperatura, humedad e iluminación (Nabors, 2006).

2.2.5. Crecimiento

El crecimiento se puede definir como el aumento del volumen, masa y peso de un organismo; en este contexto, estos parámetros suelen interactuar de manera compleja, dando lugar a lo que comúnmente se percibe como crecimiento. (Bidwell, 2003).

2.2.6. Desarrollo

Se puede describir al desarrollo como el progreso o los cambios que ocurren en un organismo de manera progresiva o abrupta, con la finalidad de alcanzar un estado complejo o avanzado en la mayoría de las situaciones (Bidwell, 2003).

2.2.7. Masa callosa

Masa callosa o “callo”, viene a ser una masa amorfa surgida de la proliferación irregular de células, las cuales tienen el potencial para desarrollar raíces normales, brotes y embriones que forman plántulas (Lallana y Lallana, 2003).

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Orquídeas

La familia Orchidaceae son de las plantas con mayor renombre a nivel mundial, caracterizadas y ampliamente conocidas por la complejidad y belleza de sus flores. Esta familia comprende entre 25 a 30 mil especies naturales y muchos otros híbridos naturales o creados (Mechaca García, 2011). Para el Perú se estima la presencia de entre 2600 y 3000 especies distribuidos en la gran mayoría de ecosistemas terrestres (Álvarez Alonso et al., 2015). Viene a ser la familia de mayor diversidad dentro de la clase Monocotiledóneas; No obstante, una de las particularidades que los distingue del resto es la carencia de almacenamiento de nutrientes, siendo reemplazada por la estructura denominada protocormo. Este último debe establecer una asociación simbiótica con un hongo para proporcionarle nutrición durante la etapa inicial de su ciclo de vida (Jonasson, 2015).

2.3.1.1. Distribución

La amplia variedad de orquídeas posibilita su presencia en diversos ecosistemas, es por ello que se encuentren distribuidas a nivel mundial, excluyendo los desiertos y el agua, donde no se tiene reporte de hallazgo de algún espécimen; no obstante, la mayor concentración de estas plantas se observa en regiones tropicales o cálido-húmedas (Mechaca, 2011). En el Perú se encuentran presentes en los departamentos de Junín, San Martín, Cusco, Huánuco, Amazonas, Pasco, Huancavelica, Cajamarca, Madre de Dios, Ayacucho, Lima, La Libertad, Puno, Ucayali y Loreto (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2020).

2.3.1.2. Morfología

Aunque las orquídeas exhiben una diversidad de formas, tamaños y colores, comparten rasgos comunes que son empleados en su agrupación y clasificación taxonómica (Mechaca, 2011).

A. Inflorescencia

La gran variedad de orquídeas origina una diversidad de formas florales, que pueden ser individuales o múltiples, por dichas características Mechaca (2011) las agrupa de la siguiente forma:

Por su origen

- Axilar: la vara floral se origina de entre el tallo y la hoja.
- Basal: la vara floral se origina de la base del pseudobulbo.
- Terminal: la vara floral se origina en la punta del tallo o pseudobulbo

Por su forma

- Espiga: Las flores se originan a partir de una vara central.
- Panícula: La vara floral tiene múltiples ramificaciones, produciendo una gran cantidad de flores, que suelen ser pequeñas.
- Racimo: La vara floral muestra una ramificación en la que se desarrollan las flores.
- Umbrela: Al final de la vara floral, todas las flores aparecen alineadas en fila.

B. Flor

Darwin describe que, en las orquídeas al igual que la mayoría de las monocotiledóneas la flor presenta tres partes, un verticilo externo de tres sépalos, uno interno de tres pétalos, en el cual el pétalo medio es más colorido y/u ornamentado, comúnmente denominado labelo. El androceo y el gineceo de la inmensa mayoría de las orquídeas están fusionados en una única estructura denominada ginostemo o columna (Singer, 2010). El polen, se encuentra empaquetado en estructuras llamadas políneos que suelen estar agrupado en pares. Por último, múltiples especies están asociados a determinados insectos para su polinización, siendo necesarios para su reproducción y supervivencia (Mechaca, 2011)

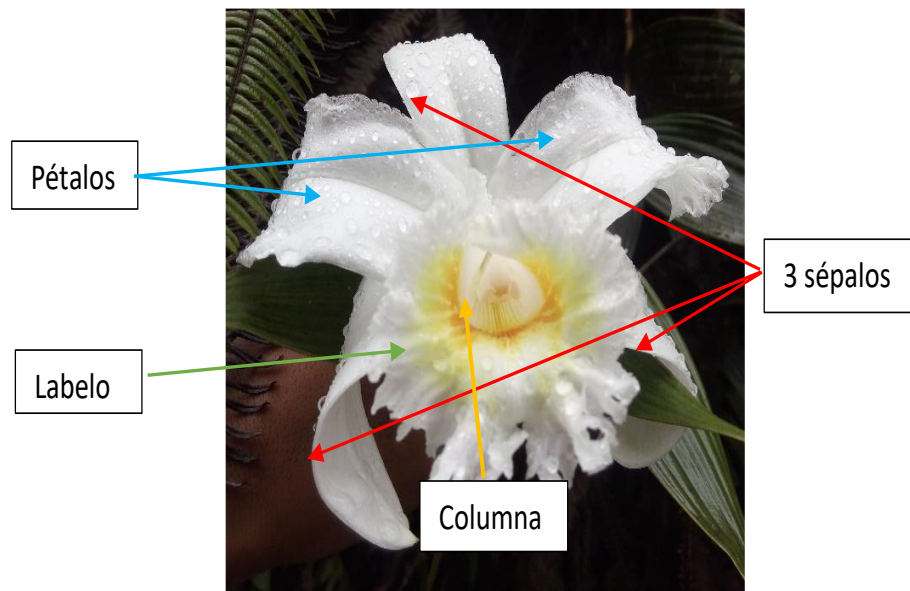


Figura 1. Estructuras de la flor de una *Sobralia* sp. Fuente propia

C. Frutos y semillas

Los frutos botánicamente son nombrados como cápsulas, pueden ser alargados, ovalados o casi redondos, también pueden tener verrugas o ser muy lisas (Ayuso, 2017).

En la parte interior de las cápsulas podemos encontrar miles, incluso millones de semillas, estas pueden variar desde filiformes, elípticas, ovoides, redondeadas a fusiformes y en algunos casos presentan alas (Duarte et al., 2017). El tamaño varía desde unos 5 milímetro hasta pocas micras (muy pequeño) con un peso de 1 a 22 microgramos. Al ser semillas muy pequeñas estas carecen de endospermo que pueda alimentar al embrión mientras surge sus hojas, la testa está formada por células muertas de entre 8 a 200 células (Mechaca, 2011).

D. HOJAS

Las orquídeas presentan hojas simples, sin divisiones, folíolos y no tienen aserraduras ni espinas (Mechaca, 2011). En la mayoría de orquídeas se observa hojas con venación paralela y algunas con venación reticulada. Se puede observar por lo general tres tipos de hojas (Álvarez et al., 2015):

- Hoja plegada.
- Hojas conduplicadas.
- Hojas cilíndricas o terete.

E. TALLO

Es el órgano de soporte para las hojas, flores y frutos. Para las orquídeas en relación a la modificación de los tallos, Mechaca (2011) los clasifica en tres:

- **Tallos cilíndricos o caña:** Son erectos y alargados, por lo cual su parecido al carrizos con entrenudos de donde originan las hojas e inflorescencias (Mechaca, 2011).
- **Pseudobulbos:** Son tallos aéreos, modificados para el almacenamiento de agua y nutrientes, estos pueden ser engrosados, comprimidos y abultados en forma de papa (Mechaca, 2011).
- **Cormos:** Son tallos subterráneos modificados que almacenan agua y reservas en forma de almidón, generalmente con varios entrenudos. La planta puede perder completamente la parte aérea y rebrotar desde estas estructuras (Mechaca, 2011).

2.3.1.3. Epidendrum

Epidendrum es el género más diverso de la familia Orchidaceae en Centroamérica y Sudamérica. Planta de porte herbáceo, con hábitos de crecimiento epífita o litófito, crecimiento en matas de múltiples tallos aéreos, con o sin rizoma evidente; tallos tipo caña, simples o ramificados, ocasionalmente forman pseudobulbo; hojas dísticas distribuidas a lo largo del tallo o agrupadas en el ápice, coriáceas a membranáceas, inflorescencia racemosa, corimbosa o paniculada, generalmente terminal; sépalos libre similares a los pétalos que generalmente son angostos; labelo completamente fusionado a la columna; fruto regularmente en forma de cápsula elipsoide, por lo común áptera (García et al., 2003).

Sistema de clasificación por encima de familia de acuerdo a Cronquist e inferiores por Dressler (1993) donde indica que, el género en estudio pertenece.

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophytas
Clase	:	Liliopsida
Subclase	:	Lilidae
Orden	:	Orchidales
Familia	:	Orchidaceae
Subfamilia	:	Epidendroideae
Tribu	:	Epidendreae

Subtribu	:	Laeliinae
Género	:	Epidendrum
Especie	:	<i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl., Reliq. Haenk. 1: 101 (1827)

2.3.1.4. Germinación en orquídeas

Debido a la estructura simple que presenta una semilla de orquídea la gran mayoría necesita de la simbiosis con un hongo específico para lograr germinar, este hongo es quien brinda el soporte nutricional durante las primeras etapas del desarrollo (Harris et al., 2021). En el medio natural la tasa de éxito es muy bajo, es necesario la coincidencia simultánea de múltiples factores, es por ello que de un millón de semillas solo llegan a germinar entre 10 a 15 y después de 2 a 3 años solo uno o dos llegan a ser plantas adultas (Mechaca, 2011). Por otro lado, están las técnicas de germinación asimbiótica donde no se requiere de la presencia del hongo para lograr la germinación y desarrollo de la planta (Otero y Bayman, 2009).

La germinación asimbiótica consta de diversas etapas relacionadas a los cambios que presentan las semillas durante la formación y desarrollo de las plántulas, para la germinación de orquídeas Chacón et al. (2017) considera cinco etapas:

- 1. Imbibición:** Es la primera etapa del proceso de germinación, donde se da un ligero incremento del volumen debido a la absorción de agua (Chacón et al., 2017).
- 2. Semillas verdes:** En esta etapa surge el cambio de coloración de las semillas por la transformación de los protoplastidios a cloroplastos y el incremento de masa (Chacón et al., 2017).
- 3. Inicio de división celular:** Se produce un mayor incremento del volumen de la semilla debido a la división mitótica de las células seminales (Chacón et al., 2017).
- 4. Protocormo:** Vienen a ser el conjunato de células meristemáticas y parenquimatosas originadas del desarrollo inicial de las semillas de orquídeas, el protocormo se caracteriza por ser un embrión con una escasa diferenciación de los tejido y un crecimiento característico (Chacón et al., 2017).
- 5. Desarrollo de órganos axiales:** Considerada como la etapa final de la germinación donde se da la formación del brote y raíces (Chacón et al., 2017).

2.3.2. Cultivo *in vitro*

Hace referencia a cultivar un organismo en frasco de vidrio, un ambiente artificial, tomando como base la totipotencia celular propuesta por Haberland en 1902 y la hipótesis del balance hormonal sugerida por Skoog (Núñez y Mariño, 2008). Esta forma de cultivo tiene dos características primordiales: la asepsia (ausencia de microorganismos perjudiciales), y el control de los factores que afectan el desarrollo y crecimiento (Castillo, 2004). Finalmente, el cultivo *in vitro* ha contribuido a mejorar el entendimiento de los eventos en la diferenciación celular.

2.3.2.1. Micropropagación

La micropropagación viene a ser uno de los usos que se le da al cultivo *in vitro*, así mismo, se comprende como micropropagación a los procesos asépticos donde se dé la manipulación órganos, tejidos o células de plantas con la finalidad de lograr producir una población con características fenotípicas y genotípicas seleccionadas mediante técnicas de cultivo *in vitro* (Núñez y Mariño, 2008). Así mismo, Núñez y Mariño (2008) considera cinco etapas básicas para la micropropagación, numeradas del 0 al IV:

Etapla 0. elección del material vegetal: Durante esta etapa, se lleva a cabo la preparación, selección y acondicionamiento de plantas madre como paso previo para iniciar el proceso de micropropagación, es indispensable tener en consideración la identidad (especie o variedad) y su estado de salubridad de la planta (libre de patógenos, deficiencias o estrés) (Núñez y Mariño, 2008).

Etapla I. Iniciación del cultivo: Una vez seleccionadas las plantas (aquellas que posean unas características genotípicas y fenotípicas deseadas) se realiza la desinfección superficial del material escogido para evitar el crecimiento de microorganismos, especialmente bacterias y hongos en el medio de cultivo (Núñez y Mariño, 2008).

Etapla II. Multiplicación: En esta etapa se realiza la multiplicación de las plántulas mediante la formación de nuevas estructuras (brotes o propágulos), los cuales al ser separados tendrán la capacidad de formar una planta, lo que puede dar origen a un nuevo ciclo de reproducción y de esta forma incrementar el número de individuos (Núñez y Mariño, 2008).

Etapla III. Inducción y desarrollo de raíces: En esta fase se induce la formación y proliferación de raíces adventicias. Para esta etapa se puede o no utilizar inductores de enraizamiento, dependiendo de los requerimientos de la planta a

trabajar. El enraizamiento puede llevarse a cabo tanto en condiciones *in vitro* como en *ex vitro*, en este último se debe tener en cuenta la vigorosidad y desarrollo de las plántulas de forma que puedan sobrevivir y desarrollar raíces en un entorno no necesariamente estériles (Núñez y Mariño, 2008).

Etapa IV. Aclimatación: Debido a las condiciones del cultivo *in vitro* las plantas casi no fotosintetizan y son dependientes al carbón orgánico suplementado con los azúcares añadidos; así mismo, sus estomas no son funcionales y la cutícula es poco desarrollada debido a la alta humedad relativa y la escasa fotosíntesis. Por ello, es importante que al momento de extraerlas y llevarlas en condiciones externas el proceso debe ser gradual (Núñez y Mariño, 2008).

2.3.3. Fitohormonas y reguladores de crecimiento.

El concepto de fitohormonas se refiere a compuestos químicos producidos por las plantas que regulan el crecimiento y desarrollo, así como respuestas a estímulos ambientales. Estas sustancias, también conocidas como reguladores de crecimiento vegetal, desempeñan un papel crucial en diversos procesos fisiológicos, como la germinación de semillas, la floración, la maduración de frutas y la respuesta al estrés ambiental (Taiz y Zeiger, 2010). Es necesario considerar criterios como la oportunidad de aplicación, la dosis, la sensibilidad de la variedad, la condición de la planta, entre otros, ya que cada planta presenta requerimientos específicos de crecimiento que pueden verse afectados por la concentración de estos. Cuando hablamos de reguladores de crecimiento vegetales se hace referencia a productos sintéticos o extraídas de otros organismos, que se han convertido en las principales herramientas para regular y controlar el crecimiento, desarrollo y actividad bioquímica en plantas por lo que en los últimos años su uso se ha incrementado (Alcantara et al., 2019).

2.3.3.1. Auxinas

Darwin fue de los primeros en hipotetizar la existencia de un componente presente en el ápice de coleoptidos de avena, posterior a ello en 1926 Fritz Went logro aislar esta “sustancia promotora de crecimiento”, el cual posteriormente se llegó a conocer como auxina (Jordán y Casaretto, 2006).

De acuerdo con Jordán y Casaretto (2006) las auxinas se dividen entre naturales y sintéticas, donde podemos encontrar múltiples hormonas como:

- **Auxinas naturales:** Ac. Indol-3-acético (IAA), Ac. Indol-3-butírico (IBA), Ac. Fenilacético (PAA) y Ac. Cloroindol-3-acético (Cl-IAA).

- **Auxinas sintéticas:** Ac. Naftalen-acético (NAA), Ac. 2-metoxi,3,6-diclorobenzoico (dicamba), Ac. 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y Ac. 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), ácido naftoxi-2-acético (NOA), ácido 2-metoxi, 3,6-dicloro benzoico (dicamba). En la actualidad el 2,4-D es un herbicida de uso común.

A. Composición química y biosíntesis

El AIA fue la primera auxina en descubrirse, pero no es la única auxina existente, actualmente se conocen múltiples compuestos químicos que tienen efectos semejantes al AIA pero difieren en su estructura química; se sabe que el mayor porcentaje de moléculas que conforman este grupo son derivados indólicos, aunque también se puede observar algunos compuestos fenoxiacéticos, benzoicos o picolínicos con actividad auxínica (McSteen y Zhao, 2008).

Para que una sustancia química se considere con actividad auxínica, debe cumplir con ciertas características, como tener una carga negativa en el grupo carboxilo a una distancia de 0,55 nm de una carga positiva residual, la cual puede estar localizada en el anillo aromático o indólico. Sin embargo, la presencia de anillos en la molécula no es una condición excluyente. Un claro ejemplo es el N,N-dimetilcarboximetiltiocarbamato, que carece de anillo pero presenta las cargas positiva y negativa a la distancia mencionada anteriormente, y posee actividad auxínica (Cossio, 2013).

B. Rutas de biosíntesis

La producción de AIA originado a partir de triptófanos varía por cada grupo de plantas, así mismo el estado de desarrollo de la planta puede variar la ruta de síntesis (Cossio, 2013). Actualmente, se conocen cuatro vías de síntesis del AIA, cada una con un intermediario diferente, de acuerdo con Jordán y Casaretto (2006) estas cuatro rutas de síntesis del IAA a partir de triptófano son: (1) producción de triptamina (TAM) por descarboxilación, (2) formación de indolacetamida (IAM) por medio de oxigenación, (3) producción de ácido indol-3-pirúvico (IPA) por transaminación y (4) producción de indol-3-acetaldoxima (IAOx) por medio de oxigenación.

Otra auxina natural es el ácido fenilacético, que se sintetiza a partir de la fenilalanina mediante rutas parecidas a las del AIA. Así mismo, el ácido indolbutírico es sintetizado del AIA con la intervención de una enzima, la IBA-sintasa (Cossio, 2013).

C. Acción fisiológica

Las auxinas a nivel de la planta fomentan la formación y crecimiento de tallos, producción de raíces adventicias e incremento de la dominancia apical; así mismo, a nivel celular induce la división y elongación celular, diferenciación celular, promueve la mitosis celular meristemática, incrementa el contenido osmótico celular, incrementa la permeabilidad celular, estimula la producción proteica y reducción de la presión en la pared celular (Alcantara et al., 2019).

- **Crecimiento y formación de raíces.** Las auxinas reprimen el crecimiento de la raíz primaria, pero estimulan la formación de raíces laterales. También estimula la biosíntesis del etileno, una hormona que inhibe el crecimiento radicular. Por tanto, niveles inferiores a 10^{-9} M de IAA son capaces de fomentar crecimiento de raíz, lo cual no ocurriría si niveles endógeno normales son más elevados. Esto también favorece la formación de raíces adventicias, quienes pueden formarse en diversos tejidos donde se observen grupos de células con una división activa (Jordán y Casaretto, 2006).
- **Regulación de tropismos.** Las auxinas juegan un papel importante sobre el crecimiento de tallos y raíces, con la finalidad de controlar el efecto de los tropismos. Estas respuestas se manifiestan en los giros, torciones o inclinaciones que los tallos y raíces realizan hacia estímulos como la luz (fototropismo), el contacto (tigmotropismo) o la gravedad (geotropismo o gravitropismo) (Jordán y Casaretto, 2006).
- **Abscisión de órganos.** En esta situación las auxinas presentan un efecto adverso sobre la abscisión de los órganos, demorando la caída de flores, frutos y hojas tiernas. El movimiento de la auxina desde la lámina foliar hacia la base del pecíolo previene la abscisión al inhibir la acción de la hormona etileno (Jordán y Casaretto, 2006).
- **Desarrollo de flores y frutos.** Las plantas tratadas con inhibidores del transporte de auxinas o en plantas mutantes con deficiencia en el transporte de auxina muestra deformaciones en las inflorescencias y la arquitectura floral, lo que sugiere que la hormona es esencial para el desarrollo adecuado de las flores Pfluger y Zambryski (2004), citado por Jordán y Casaretto, (2006).

C. Acido 3-indol-acético

El AIA es un ácido carboxílico ($C_{10}H_9NO_2$, peso molecular = 175 g/mol) donde el grupo carboxilo está unido mediante un grupo metilo a la posición C-3 de un anillo de indol. La distancia de 0,5 nm entre la carga negativa del grupo carboxilo y la

carga residual positiva del anillo aromático es responsable de su actividad auxínica (Taiz y Zeiger, 2002).

2.3.3.2. Citoquininas

Las citoquininas son hormonas vegetales naturales derivadas de las adeninas, estas se evidenciaron por primera vez al estudiar el efecto del extracto de levadura y el jugo de tomate sobre el crecimiento vegetal, donde se percibió la existencia de unas sustancias con la capacidad de iniciar y sustentar la proliferación de tejidos madre (Gupta y Chakrabarty, 2013). Las citoquininas fueron descubiertas en 1956 cuando el grupo de Skoog aisló la quinetina a partir de esperma de arenque. El nombre de esta sustancia se debe a su capacidad para inducir la mitosis celular (citocinesis) de los tejidos vegetales (Cossio, 2013).

Citoquininas naturales: La composición, estructura y propiedades de las citoquininas y del sustituyente N⁶ de la adenina permite agrupar en 2 grupos Martínez (2011): isoprenoídicas donde se encuentran las familias de la isopenteniladenina (iP), dihidrozeatina (DZ) y la zeatina (Z); por otro lado, están las citoquininas aromáticas, donde se ubican las familias de la benciladenina (BA), la ortohidroxibenciladenina y la meta-hidroxibenciladenina.

Citoquininas sintéticas: 6 bencilaminopurina (BAP), thidiazuron (TDZ), (N⁶-furfuriladenina) kinetina, N⁶- benciladenina (BA), N⁶ (2-isopentil) adenina (2-iP) (Perea, 2009).

A. Composición química

A partir de una base púrica adenina se puede dar origen a una citoquinina. Todas presentan un reemplazo de naturaleza aromática o isoprenoide en el nitrógeno ubicado en la posición 6 del anillo de la purina. En las plantas, las citoquininas pueden estar unidas a varios compuestos químicos que se unen a la purina o a la cadena lateral o como bases libres. Las principales formas conjugadas de citoquininas incluyen nucleósidos, nucleótidos, glicósidos, alanil derivados y metiltioderivados. (Cossio, 2013).

B. Ruta de biosíntesis

La biosíntesis de citoquininas se origina de DAMPP y 5'-AMP. Las reacciones muestran la desfosforilación de los intermediarios nucleótidos y la creación de bases libres derivadas de adenina. Las citoquininas pueden inactivarse por la acción de O-glicosilación en el grupo hidroxilo terminal y degradarse a citoquininas tipo zeatina o por N-glicosidación en el N3 o N7 de la adenina. El primer efecto es

reversible y se considera como la forma de almacenamiento. Bajo la acción de citoquinina-oxidasas las formas activas del También se degradan, además que reconvierten a varias en su base adenina o sus derivados (Jordán y Casaretto, 2006).

C. Acción fisiológica

Las citoquininas son hormonas vinculadas al procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas, entre las principales acciones de las citoquininas a nivel de las plantas están: el retraso de senescencia, activación de yemas laterales en dormancia (generación de brotes axilares) e incrementan la expresión de “demanda” en el transporte de savia elaborada a nivel del floema (Jordán y Casaretto, 2006). Mientras que a nivel celular pueden sustentar y dar paso a la multiplicación del tejido vegetal madre, permite generar una alta división celular (Alcantara et al., 2019). Así mismo, estas se producen en mayor abundancia en las células apicales de las raíces.

- **Promueve la división celular.** A nivel de la fase G1, citoquininas en interacción con otras hormonas (auxinas) inducen un nuevo ciclo celular al fomentar la acumulación de ciclinas (Smith y Atkins, 2002, como se citó en Jordán y Casaretto, 2006). En conjunto a las auxinas contribuyen el transcurso de G2 a M. Esto favorece la formación de callos de cicatrizantes o tumores por síntesis aumentada junto con las auxinas a casusa de enfermedades generadas por microorganismos como el *Agrobacterium* (Cossio, 2013).
- **Promueven la formación y crecimiento de brotes laterales (axilares).** En ausencia de auxinas vence la dominancia apical y promueve una brotación lateral (Cossio, 2013).
- **Promueven la maduración de los cloroplastos.** Junto a factores como la luz y la nutrición, contribuye a la síntesis de proteínas enzimáticas y pigmentos fotosintéticos (Cossio, 2013).
- **Retrasan la senescencia de las hojas.** Las citoquininas favorecen el desarrollo de cloroplastos en oscuridad, sustituyendo parcialmente la demanda de luz. Una mayor duración de clorofilas activas conlleva que las hojas y la planta mantengan la síntesis de proteínas y por consiguiente la transcripción de varios genes; esta producción de proteínas promueve la detención del proceso de senescencia en comparación a los tejidos sin la hormona (Jordán y Casaretto, 2006).

- **Promueven la germinación de algunas semillas.**
- **Estimulan la producción de óxido nítrico**

2.4. Marco legal

El estado peruano viene proponiendo múltiples estrategias, políticas, normas, planes y proyectos nacionales orientados a la conservación, uso y aprovechamiento sostenible de los recursos naturales, tales como las orquídeas, quienes en los últimos años han tomado relevancia dentro de la población y se ha colocado en mira del estado como un recurso de importancia. Es por ello que el estado a través de sus ministerios viene regulando el tráfico de flora silvestre, debido al impacto que esta actividad genera en las poblaciones silvestres múltiples especies se encuentran en peligro (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2020).

Con la intención de proteger los recursos naturales surge la Ley Forestal y de Fauna Silvestre Ley N° 29763 y sus reglamentos, donde se establece que toda persona tiene el derecho de acceder al aprovechamiento y disfrute del patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación. Así mismo, en su Título XV, en el artículo 133 se menciona que “El Estado promueve la investigación científica dentro de las áreas de los títulos habilitantes. Toda investigación que implique colecta o no y/o captura temporal de material biológico con fines científicos debe contar con la autorización otorgada por la autoridad correspondiente. Dichas autorizaciones no requieren el pago de derecho de trámite” (Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre, 2015). En función a esto fue publicado el 2016 la Resolución de Dirección Ejecutiva N°060-2016-SERFOR/DE Los “Lineamientos Para El Otorgamiento De La Autorización Con Fines De Investigación Científica De Flora Y Fauna Silvestre”.

De la misma forma el Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI decreto supremo que aprueba el reglamento para la gestión forestal tienen como objetivo promover la protección, la conservación y el uso sostenible del patrimonio forestal, integrando su manejo con el mantenimiento y mejora de los servicios de los ecosistemas forestales (Ministerio de Agricultura y Riego, 2015).

A nivel internacional el CITES vela por el comercio de todas las especies de orquídeas, en Perú 2203 especies se encuentra categorizada en el apéndice II, mientras a excepción de 11 especies todas del género *Phragmipedium* que se ubican en el apéndice I de la CITES (Ministerio del Ambiente, 2018).

Finalmente nace el Plan Nacional de Conservación de las Orquídeas Amenazadas del Perú 2020-2029, que tiene como objetivo preservar las poblaciones de orquídeas silvestres que se encuentran amenazadas dentro del territorio peruano, por medio de acciones articuladas que refuercen las capacidades técnicas de los actores vinculados a su manejo, gestión y aprovechamiento. Para la identificación de áreas clave para la conservación de orquídeas se plantean 7 líneas de acción (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego, 2020).

- Línea de Acción N° 1: Identificación de áreas clave para la conservación de orquídea
- Línea de Acción N° 2: Desarrollo y promoción de la investigación
- Línea de Acción N° 3: Manejo y conservación
- Línea de Acción N° 4: Fortalecimiento de capacidades
- Línea de Acción N° 5: Difusión y sensibilización
- Línea de Acción N° 6: Vigilancia y control
- Línea de Acción N° 7: Mecanismos para promover el aprovechamiento sostenible

La ley 28711 Régimen de protección de los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas vinculados a los recursos biológicos, menciona que se debe tener en consideración la protección de los conocimientos colectivos indígenas sobre las propiedades y aplicaciones de la biodiversidad de flora, fauna, derivados y mezclas, que están en dominio público, así como de aquellos conocimientos aún no divulgados, que están preservados por los pueblos indígenas y sus miembros.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

La investigación se realizó en dos etapas:

- a. Etapa de campo.** Realizado al borde de la carretera Ayacucho - San Francisco en las proximidades del centro poblado de Tutumbaru.
- b. Etapa experimental.** Realizado en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.1.1. Ubicación política

Tabla 1. Tabla de ubicación política del centro poblado de Tutumbaru y Laboratorio de Biología Celular y Molecular.

Etapa	Ubicación	Distrito	Provincia	Región
Campo	Centro poblado de Tutumbaru	Huamanga	Huamanga	Ayacucho
experimental	Laboratorio de Biología Celular y Molecular	Sivia	Huanta	Ayacucho

3.2.2. Ubicación geográfica

Tabla 2. Tabla de ubicación geográfica del centro poblado de Tutumbaru y Laboratorio de Biología Celular y Molecular.

Etapa	Ubicación	Coordenadas WGS 84 – UTM, zona 18L		
		Este	Sur	Altitud (m.s.n.m.)
Campo	Centro poblado de Tutumbaru	614034,23	8592839,31	1766
Experimental	Laboratorio de Biología Celular y Molecular	584431,78	584431,78	2761

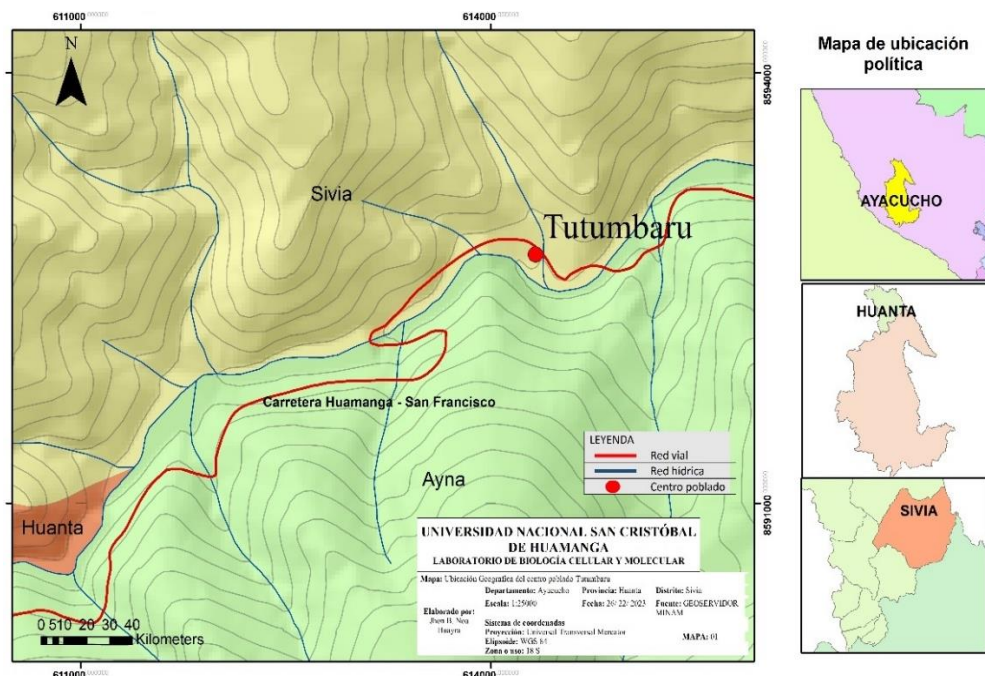


Figura 2. Mapa de ubicación geográfica de la localidad de Tutumbaru.

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

La población está conformada por las semillas contenidas en una cápsula de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.

3.3.2. Muestra

Germinación: la muestra por la cantidad de semillas en 1 ml (1 cm³ de semillas disuelto en 20 ml de agua destilada).

Propagación: la muestra se conformó por 30 plántulas por tratamiento.

3.4. Tipo de investigación

Tipo de investigación básico experimental

3.5. Metodología y recolección de datos

3.5.1. Recolección y selección de material vegetal

La planta y semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. se recolectaron en la localidad de Tutumbaru, departamento de Ayacucho, mediante una búsqueda intensiva.

3.5.1.1. Criterios para la recolección del material biológico

- Coloración amarillenta en la parte apical de la cápsula.
- Ligera dehiscencia de la cápsula sin llegar a diseminar sus semillas.
- Cápsula hinchada y de textura algodonosa al ser presionada.

3.5.1.2. Colecta de muestras

La colecta se realizó en los sectores que bordean la carretera camino a la localidad de Tutumbaru mediante una búsqueda intensiva a 50 metros lineales por encima de la carretera, dicha colecta se realizó en dos etapas:

- Primero se procedió únicamente con la colecta de cápsulas que cumplieron con los criterios para ser considerados como maduros; también, se realizó la georreferenciación del ejemplar y el marcado de la planta con cinta “flagging”. Esta colecta se realizó en noviembre del 2021.
- La segunda colecta se realizó en julio del 2022, donde se extrajo la planta completa (raíz, tallo e inflorescencia) para ser fotografiada y prensada para su posterior identificación.

Las cápsulas colectadas se colocaron en sobres de papel rotulados con ubicación, fecha y nombre del colector; posteriormente, se transportó al Laboratorio de Biología Celular y Molecular – Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, donde se almacenó en refrigeración a 4° C hasta el momento de la siembra.

3.5.2. Desinfección y siembra

3.5.2.1. Desinfección de cápsula abierta

Para la desinfección de semillas provenientes de una cápsula abierta se utilizó la técnica de Dixon (1987), la cual consistió en preparar una solución desinfectante compuesta por 5 ml de etanol al 95%, 5 ml de hipoclorito de sodio al 6% y 90 ml de agua destilada (Mayo et al., 2010).

- Para la desinfección se inició separando 1 cm³ de semillas en una jeringa de 5ml con un filtro a base de algodón en la punta.
- Se utilizó la solución desinfectante por un minuto (agitando vigorosamente) y posteriormente se enjuagó dos veces en agua destilada estéril, el proceso se repitió una vez más.
- Después del segundo lavado, las semillas se traspasaron a un tubo de ensayo con 20 ml de agua destilada estéril, en espera de la siembra.

3.5.2.2. Siembra

La siembra se realizó en placas petri de 100 mm de diámetro, en medio de cultivo MS con 30 g/L de sacarosa, 7 g/L de agar y el pH de los medios de cultivo se ajustará a 5,7 usando HCl y NaClO (Mayo et al., 2010). Este proceso se ejecutó en una cámara de flujo laminar.

- Con la ayuda de una tuberculina se extrajo un 1 ml de semillas mientras se agita el tubo de ensayos de forma que las semillas se dispersen de forma homogénea.
- Las semillas colectadas en la tuberculina se traspasaron a las placas Petri, con movimientos suaves y la ayuda de un bisel para esparcir de forma homogénea sobre los medios de cultivo preparados.
- Finalmente, mediante un estereoscopio se realizó el conteo de semillas, las cuales representaron la muestra sobre la cual se realizó la toma de datos para la germinación.

3.5.3. Micropropagación.

Para la micropropagación se seleccionó 30 protocormos desarrollados por tratamiento; las cuales, presentaban una a dos hojas primordiales, carentes de raíces y con una longitud promedio de 11 mm de largo (Pedroza, 2009). También se consideró que estas fueran germinadas en medio de cultivo MS con 30 g/L de sacarosa, 7 g/L de agar, con 5,7 de pH y en usencia de fitohormonas, de esta forma asegurar que la etapa de crecimiento y desarrollo no se vea influenciada por factores previos a la micropropagación. Todo el procedimiento se realizó en una cámara de flujo laminar.

Tabla 3. Diseño experimental para la germinación y desarrollo *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.

Tratamiento	Composición	Repeticiones	Fotoperiodo	Temperatura
T0	MS	I	16h luz / 8h oscuridad	23 °C ± 2
		II		
		III		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I		
		II		
		III		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I		
		II		
		III		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I		
		II		
		III		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I		
		II		
		III		

3.5.4. Recolección de datos

En la etapa de germinación se tomaron datos durante 13 semanas, hasta lograr observar la formación de órganos axiales en los cinco tratamientos. Los datos para evaluar el porcentaje de germinación se consideraron hasta la novena semana, donde más del 50 % de los tratamientos alcanzaron a formar de órganos axiales, en este punto se consideró el porcentaje de germinación en base a los protocormos que alcanzaron a desarrollar hojas primordiales y raíces. El porcentaje de germinación se determinó mediante la división del número de semillas germinadas por el total de semillas sembradas por tratamiento (Apolo, 2021).

Otros datos tomados en consideración fueron los protocormos que no lograron alcanzar la formación de órganos axiales y la formación de callos. Para el tiempo de germinación se tomó en cuenta el número de días que necesitó cada tratamiento para lograr alcanzar la formación de órganos axiales.

Finalmente, para el crecimiento y desarrollo de las plántulas se realizó un total de 6 tomas de datos durante los 105 días posteriores a la micropropagación. En la toma de datos se consideró el crecimiento desde la base de la plántula hasta el ápice del tallo (milímetros), número de hojas y raíces.

3.6. Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico de la germinación se realizó un diseño unifactorial completamente aleatorizado, compuesto de cuatro tratamientos, un grupo control y tres repeticiones por tratamiento.

Para el análisis estadístico del crecimiento y desarrollo se realizó un diseño unifactorial completamente aleatorizado, compuesto de cuatro tratamientos, un grupo control y tres repeticiones por tratamiento; donde, cada tratamiento estaba conformado por 30 plántulas.

Los datos obtenidos del diseño estadístico para la germinación y crecimiento fueron ingresados a una base de datos en Microsoft Excel. Se realizó la verificación de los supuestos de normalidad mediante el Test de Shapiro Wilk. Finalmente, para establecer la diferencia entre los tratamientos se realizó el análisis de varianza (ANOVA), acompañado de la prueba de Tukey ($p < 0,05$) (Pedroza, 2009).

El programa estadístico empleado para apoyarnos en el procesamiento de los datos fue Minitab 19.1.1.0 y Excel 2017 mediante el complemento Real Statistics.

IV. RESULTADOS

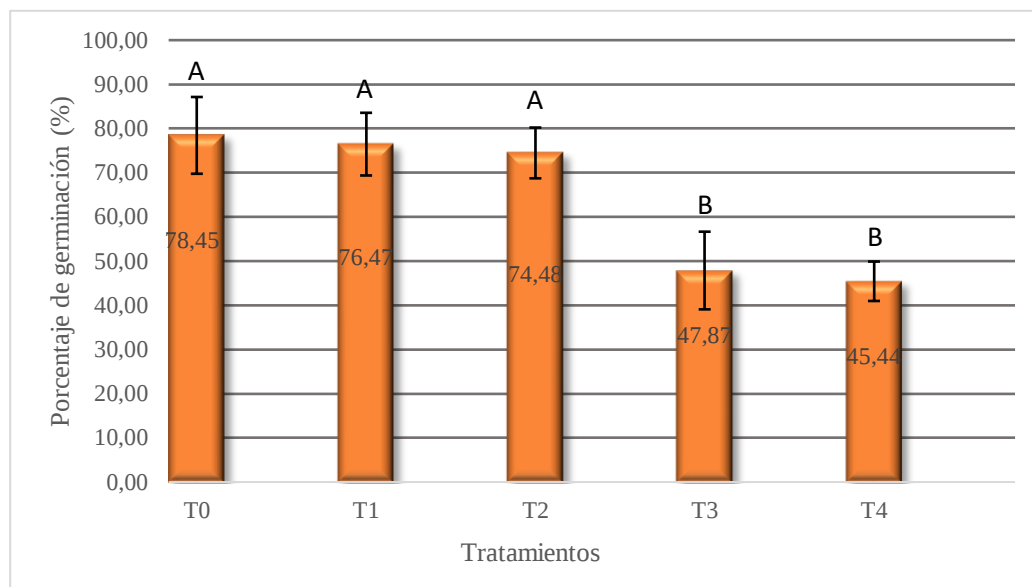


Figura 3. Germinación *in vitro* de semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a 63 días después de la siembra. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.

Leyenda:

T0: MS

T1: MS + 0,5 mg/L AIA

T2: MS + 1,0 mg/L AIA

T3: MS + 0,5 mg/L BAP

T4: MS + 1,0 mg/L BAP

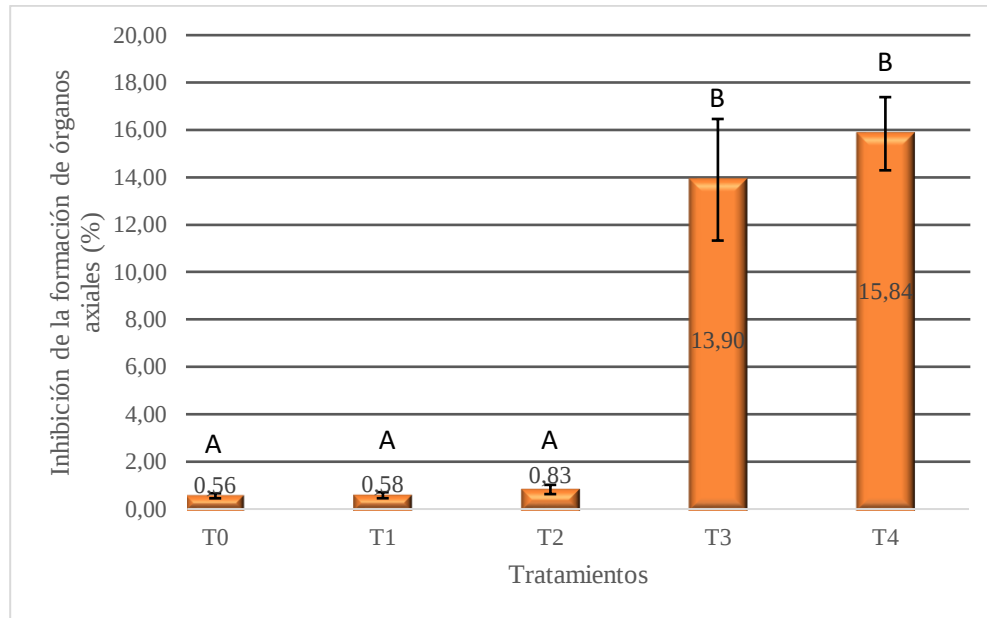


Figura 4. Inhibición de la formación de órganos axiales en la germinación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl., 63 días de la siembra, Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.

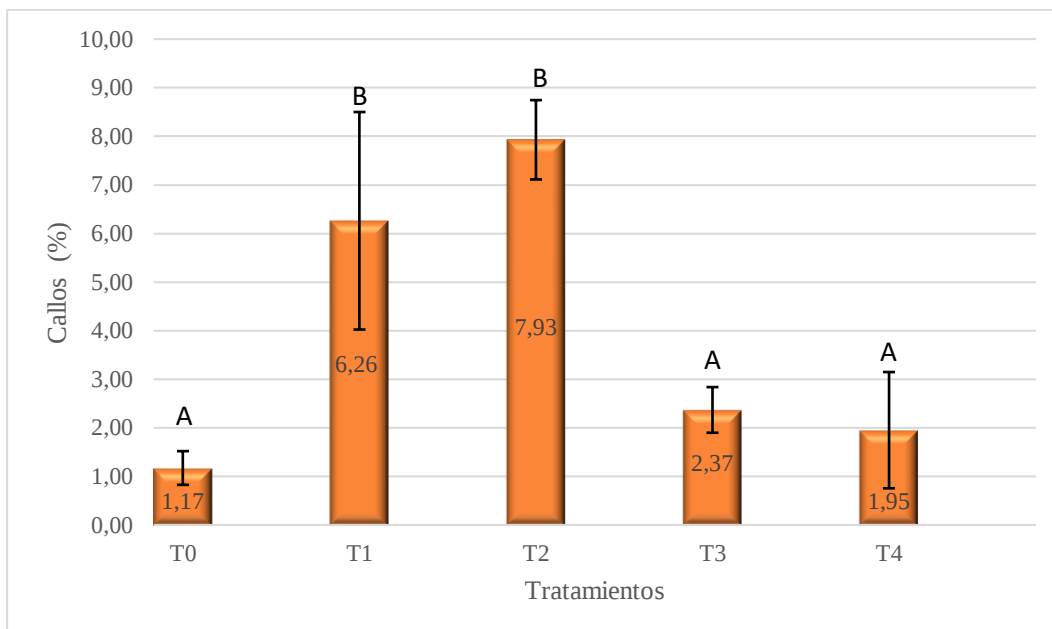


Figura 5. Formación de callos en la germinación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a 63 días de la siembra, Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.

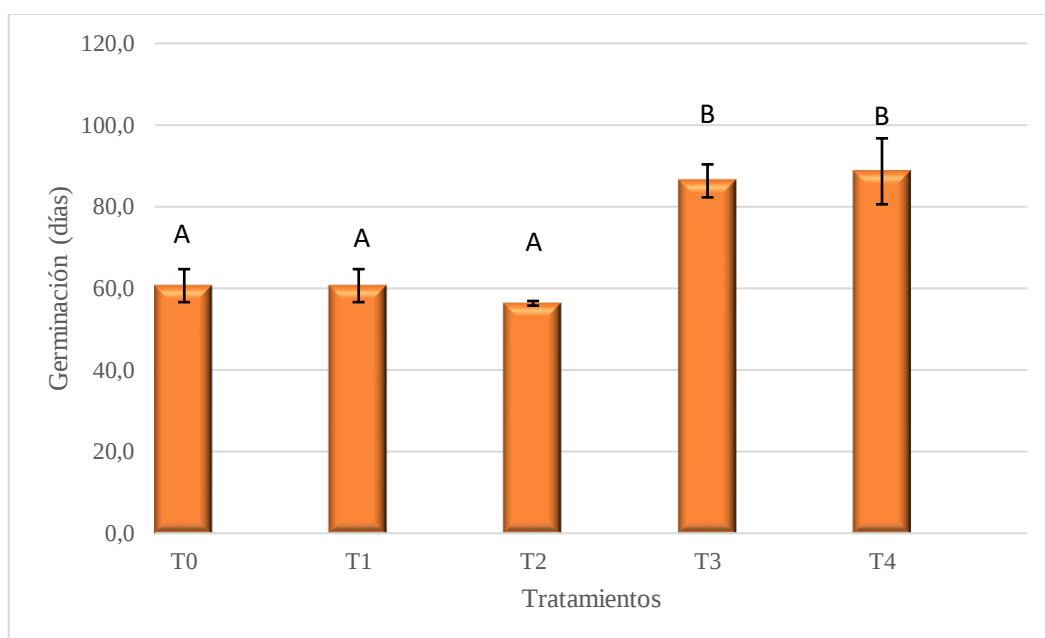


Figura 6. Tiempo de germinación *in vitro* de semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2021.

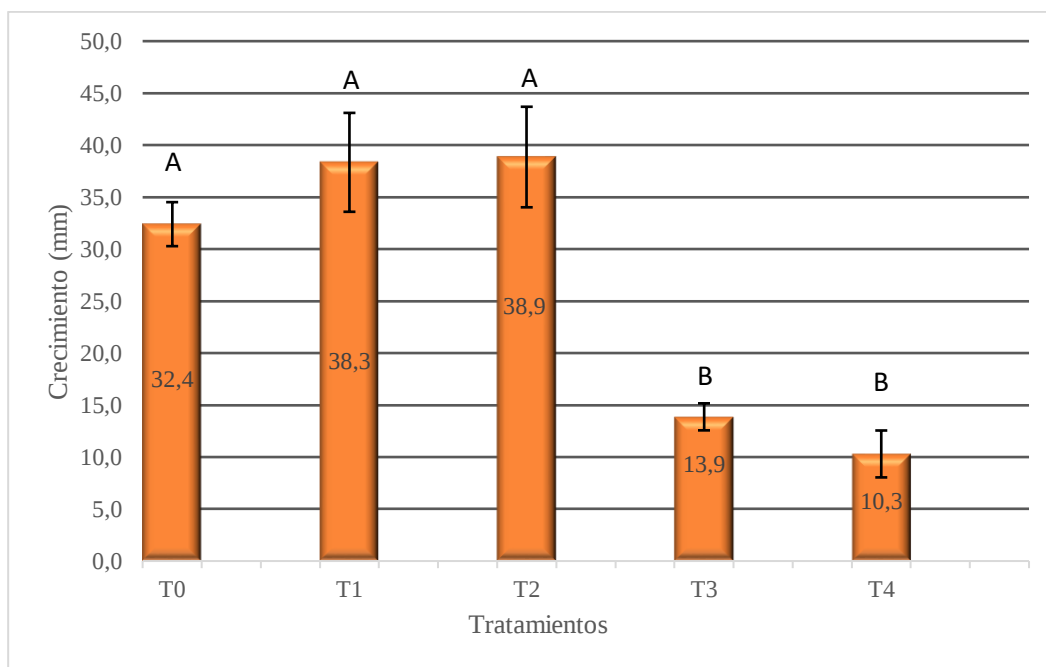


Figura 7. Crecimiento *in vitro* de plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a 105 días de la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.

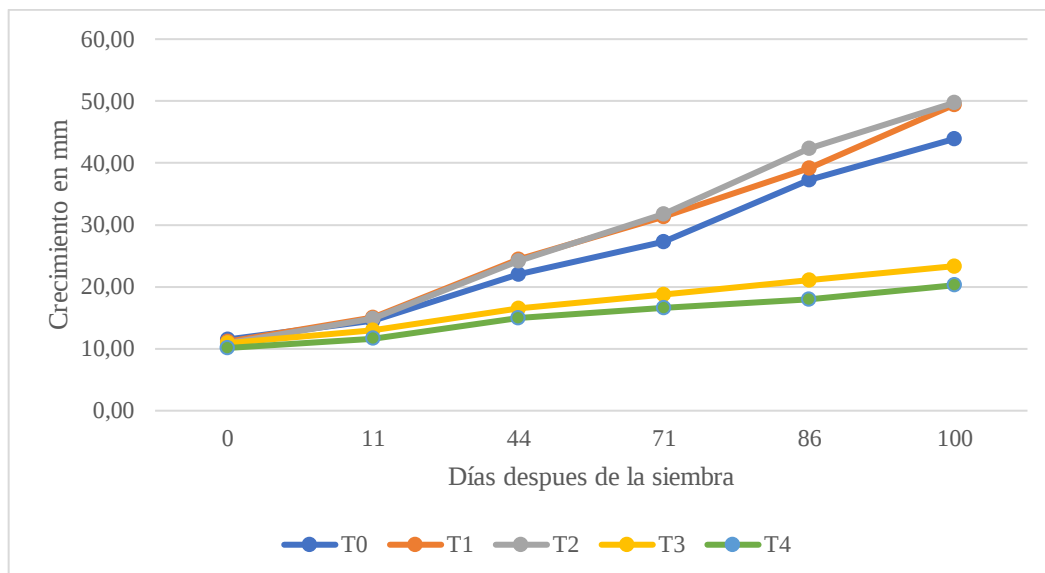


Figura 8. Crecimiento *in vitro* de plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. durante 105 días posterior a la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.

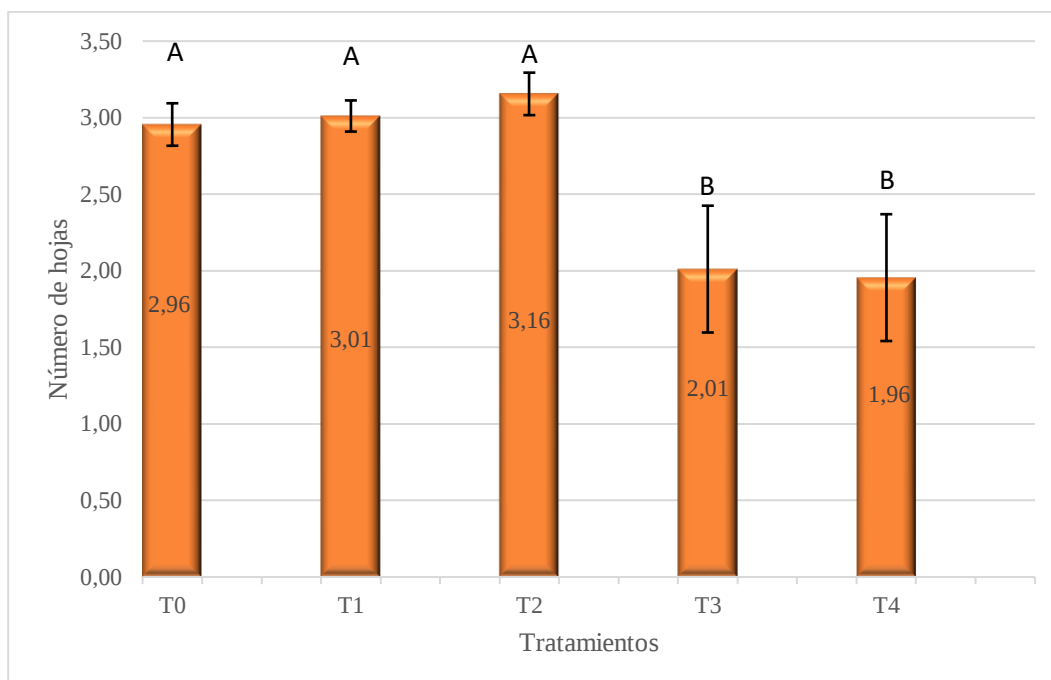


Figura 9. Número de hojas de plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a 105 días de la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.

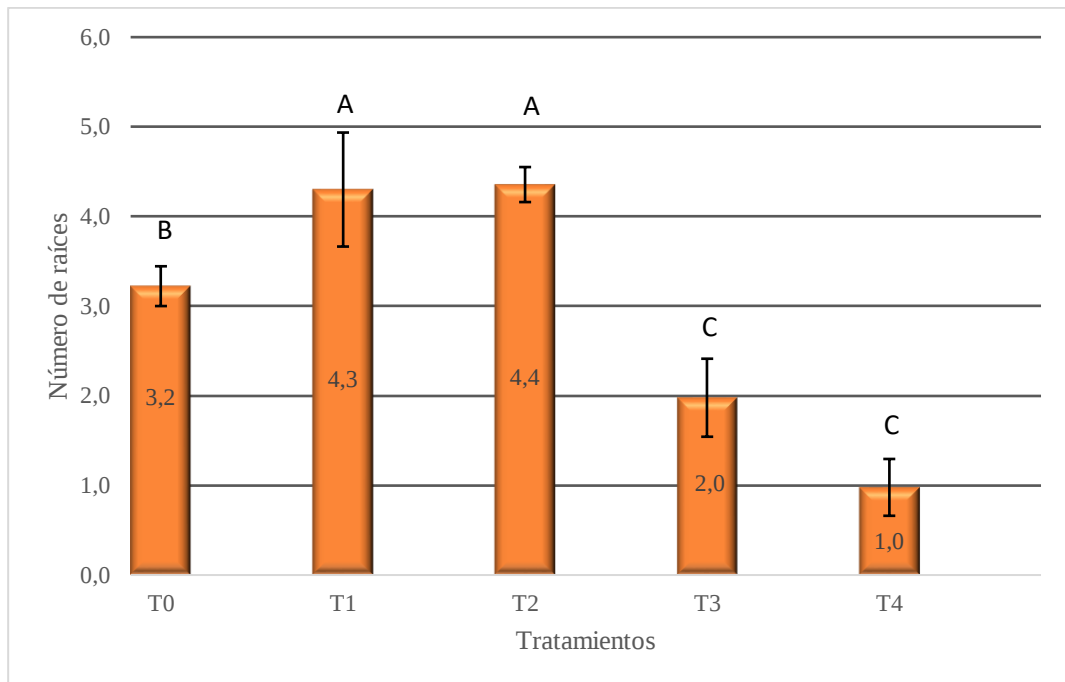


Figura 10. Número de raíces en plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a 105 días de la micropropagación. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Ayacucho 2022.

V. DISCUSIÓN

Efectos del AIA y BAP durante la germinación

La propagación mediante cultivo *in vitro* es una de las estrategias más empleadas para la obtención de plántulas en espacios reducidos y a gran escala; así mismo, el uso de fitohormonas busca mejorar los resultados de la propagación. Sin embargo, es indispensable estandarizar la técnica para las especies que se desean propagar. Como resultado en la germinación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. se observó mayor porcentaje de germinación en los tratamientos T0 (MS control), T1 (MS + 0,5 mg/L AIA) y T2 (MS + 1,0 mg/L AIA) (figura 3) donde las semillas lograron alcanzar la formación de hojas primordiales a los 63 días después de la siembra (figura 6). Al respecto, Chacón et al. (2017) reportó que en medio MS las semillas de *Epidendrum secundum* forman órganos axiales (hojas y raíces) en 11 semanas. Por otro lado, Mamani et al. (2022) y Salazar (2012) reportaron que al suplementar el medio de cultivo MS con agua de coco, jugo de piña o plátano verde se favorece la germinación y formación de los órganos axiales durante las primeras etapas del desarrollo de los protocormos. Del mismo modo Mercado y Jaimes, (2022) resaltan la importancia de componentes orgánicos como el agua de coco y jugo de piña en la germinación y crecimiento de *Cattleya gaskelliana* y *Cattleya warscewiczii*.

Los tratamientos con AIA no lograron una diferencia significativa en el porcentaje de germinación en comparación al medio control; sin embargo, presentó un ligero alargamiento de los órganos axiales y una mayor formación de callos (figura 4) que dieron origen a brotes múltiples; así mismo, Pedroza et al. (2007), menciona la importancia del AIA para el incremento del tamaño y alargamiento de los protocormos, principalmente en concentraciones de 1 mg L⁻¹, sin embargo este efecto se reduce al incrementar la concentración. Complementando a ello Mora (2021) menciona que para *Prosthechea vitellina* la interacción de 4,5 µM de BA y 1,14 µM de AIA favorece una mayor formación de brotes por explante (2,5

promedio) en medio MS con un 50% de concentración de sales. De la misma manera en la germinación de *Maxillaria nutans*, Pedroza et al. (2010) menciona la importancia del AIA en el crecimiento y desarrollo de esta especie, sin embargo, en las primeras etapas del desarrollo de los protocormos no se observó una diferencia significativa entre tratamientos.

Por otro lado, los tratamientos T3 (MS + 0,5 mg/L BAP) y T4 (MS + 1,0 mg/L BAP) mostraron un menor porcentaje de germinación (figura 3) debido a una alta tasa de protocormos que no lograron alcanzar la formación de órganos axilares (14% y 16% respectivamente) (figura 4), durante los 91 días de seguimiento posterior a la siembra (figura 7). En relación a esto Gil et al. (2019) menciona que la formación de callos mediante la adición de BAP a *Cattleya trianae* muestra una relación directa con la concentración de esta citoquinina. Así mismo, Lee et al., (2007) logró evidenciar la influencia de las fitohormonas ANA, BAP y AIA, 2 mg L⁻¹ en la multiplicación de callos embriogénicos y la regeneraron embriones somáticos en *Laelia anceps* ssp. *Dawsonii*. Por otro lado Orjuela y Deaza, (2017) mencionan que, en la germinación de *Prosthechea* sp las fitohormonas BAP y ANA, en interacción con almidón producen efectos favorables y porcentajes de germinación que rondan el 50%. De la misma forma Ariza et al., (2018) obtienen los mejores resultados de germinación en *Prosthechea* sp en medios de cultivo suplementados con almidón y adicionados con BAP(2 mg L⁻¹) y ANA (0,5 mg L⁻¹), llegando a un 52,67%. Adhikari y Pant (2019) mencionan que, sobre las esférulas, el protocormo y el primer brote de *Dendrobium primulinum*, la combinación de 0,5 mg L⁻¹ de BAP y 0,5 mg L⁻¹ de NAA se desempeñan favorablemente.

Por otro lado Paudel et al., (2013) menciona que en el cultivo *in vitro* de *Esmeralda clarkei* Rchb.f. obtuvo una respuesta retardada tanto para el desarrollo de protocormos como de plántulas a partir de semillas en medios suplementados con 1,0 - 2,0 mg L⁻¹ BAP solos o fortificados con una combinación de 0,5 - 2,0 mg L⁻¹ de BAP y NAA 0,5 mg L⁻¹.

Efectos de AIA y BAP en el crecimiento y desarrollo

Como resultado de la exposición a las fitohormonas AIA y BAP, las plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. lograron evidenciar determinados efectos en relación a estas. Los tratamientos T1 (MS + 0,5 mg/L AIA) Y T2 (MS + 1,0 mg/L AIA) lograron aumentar 38,3 y 38,9 mm respectivamente en 105 días posteriores al repique, a comparación del tratamiento T0 (MS control) donde el crecimiento fue de 32,4 mm (figura 7). Mediante el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

se determinó que, aun cuando el crecimiento y número de hojas es relativamente mayor en los tratamientos T1 y T2, este no es suficiente para ser considerado significativo. Por otro lado, los tratamientos T1 (MS + 0,5 mg/L AIA) Y T2 (MS + 1,0 mg/L AIA) indujeron una mayor formación de raíces, logrando alcanzar un promedio de 4,30 y 4,36 raíces por plántula respectivamente (figura 10), los cuales mediante el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$) se determinó que su influencia es significativamente mayor en comparación a T0, donde el promedio de raíces llegó a 3,22 raíces por plántula. En relación a esto Pedroza (2009) menciona que en el cultivo *in vitro* de *Epidendrum elongatum* el AIA 0,5 mg L⁻¹ en conjunto con carbón activo en concentraciones del 0,5 y del 1,0% muestran efectos favorables en la elongación de los vástagos; también menciona que, cuando esta concentración se incrementa los resultados disminuyen de forma considerable. Por el contrario, Coello et al. (2010) identificaron que el AIA no produce resultados notorios en la elongación de brotes de *Guarianthe skinneri*, a diferencia del AG₃, el cual demostró ser un factor determinante en la elongación de las plántulas.

Desde el punto de vista del crecimiento radicular se tiene que considerar el potencial del AIA. Frente a esto, Mora (2021) menciona que para el enraizamiento de *Prosthechea vitellina* el AIA desempeña un factor favorable, sin embargo, no se compara con el ácido indol-3- butírico (AIB) y ácido naftalenacético (ANA) quienes presentaron mejores resultados sin llegar a ser significativo en relación al testigo. Del mismo modo en *Guarianthe skinneri* (Coello et al., 2010) describe una relación favorable entre una baja concentración de Ácido giberélico (AG3) y una alta concentración de AIA en la proliferación de raíces. Este sinergismo entre el AIA y GA3 también es mencionado por Pedroza et al. (2007) para la *Comparettia falcata*, el cual, en presencia de AIA a concentraciones de 1 mg L⁻¹ y 3 mg L⁻¹ se ve favorecida en la iniciación del sistema radicular. Posterior a esto Pedroza et al. (2010) menciona que la *Maxillaria nutans* presenta un desarrollo favorable y significativo a 21 semanas después de la siembra en el medio de cultivo con AIA 0,5 mg L⁻¹ y carbón activo 0,5%. En la micropropagación de *Vanilla planifolia* Carranza et al. (2021) observó que el AIA 0,5 mg L⁻¹ favoreció una mayor formación de raíces (13±1,1) en la etapa de pre aclimatación *in vitro*; así mismo, menciona que no es necesario el uso de reguladores sintéticos en las primeras etapas del crecimiento y desarrollo. Reforzando lo anterior, Castillo et al. (2022) destaca la formación de raíces en medio MS con 2,5 mg L⁻¹ de AIA durante el desarrollo de *Catasetum integerrimum* Hook.

En cuanto a los tratamientos T3 (MS + 0,5 mg/L BAP) y T4 (MS + 1,0 mg/L BAP) se evidencio una drástica diferencia en relación al resto de tratamiento, el crecimiento y desarrollo sufrió un retraso, llegando a una tasa media de crecimiento de 13,9 y 10,3 mm respectivamente en 105 días posterior al repique (figura 7), de la misma forma el número de hojas se limitó a 2,01 y 1,96 hojas por plántula (figura 9), mediante el análisis de varianza y prueba de Tukey ($P \leq 0,05$) se determinó que la BAP en ambas concentraciones lograron una diferencia significativa en relación al resto de tratamientos. También es pertinente mencionar la oxidación en los medios de cultivo con BAP a partir de la octava semana y la influencia de este en el crecimiento y desarrollo de las plántulas. En relación al tema, Pedroza (2009) menciona que en el cultivo de *Epidendrum elongatum* la BAP no favorece el desarrollo, llegando a generar bajos niveles de crecimiento; sin embargo, en interacción con carbón activo 0,5% estos resultados tienen una ligera mejora. Por el contrario en *Esmeralda clarkei* Paudel R. et al. (2013) observó que una concentración de 0,5 mg L⁻¹ de BAP favorece el desarrollo de los protocormos y formación de plántulas; por otro lado, si esta concentración es mayor o en interacción con ANA se presenta una respuesta retardada. En *Laelia anceps subsp. anceps* Castillo et al. (2019) observó que altas concentraciones de BAP (2,5; 5,0 y 10 mg L⁻¹) favorece la formación de brotes y la longitud foliar, de la misma forma la BAP 10 mg L⁻¹ favorece la formación de raíces. Harahap et al. (2020) en su investigación sobre la adición de BAP y agua de coco en *Dendrobium sp.*, muestra que existe un efecto real en la cantidad de yemas, pero no hay un efecto significativo en la cantidad de hojas y raíces. Igualmente, Turang et al. (2023) menciona la interacción entre la combinación de medios MS y la concentración del regulador de crecimiento BAP sobre el número de brotes, pero no observó interacción significativa sobre las variables altura de brotes, número de hojas, número de raíces y peso fresco de *Dendrobium mirbelianum*. Por el contrario, Adhikari y Pant (2019) determinaron que la BAP a 1,5 mg L⁻¹, es un medio eficaz para la formación de brotes de *Dendrobium primulinum* en función al número de plántulas

Finalmente, Purwanto et al. (2023) observa que los reguladores de crecimiento AIA y BAP en medio de cultivo ½ MS no presentan una diferencia significativa en la formación de hojas y crecimiento de las plántulas de *Dendrobium stratiotes*.

Es importante resaltar la importancia del uso secuenciado de las fitohormonas con la finalidad de favorecer determinadas etapas del desarrollo donde cada uno proporciona mejores resultados (Carranza et al., 2021; Mora, 2021).

VI. CONCLUSIONES

- El AIA permitió una mayor elongación y desarrollo de los protocormos durante la germinación; sin embargo, aun con una tasa de germinación del mayor al 70% y un tiempo de germinación menor a los 63 días en comparación al medio control no presentó una diferencia significativa. Por tanto, en la germinación de *Epidendrum dichotomum C.Presl.* a una temperatura de $23\pm 2^{\circ}$ C, pH 5,7 y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad el AIA no representa un factor determinante en el tiempo y porcentaje de germinación.
- La BAP inhibió el desarrollo de los protocormos y retrasó la formación de órganos axilares, logrando un porcentaje de germinación inferior al 50% y aplazando el tiempo de germinación hasta los 91 días. Por tanto, se considera a la BAP como una fitohormona de efectos desfavorables para la germinación de *Epidendrum dichotomum C.Presl* a una temperatura de $23\pm 2^{\circ}$ C, pH 5,7 y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.
- El AIA permitió el crecimiento de las plántulas y la formación de hojas sin embargo no logró una diferencia significativa en relación al tratamiento control; por otro lado, en el desarrollo radicular se vio ampliamente beneficiado en presencia de esta fitohormona. Por tanto, el AIA favorece la formación de raíces de *Epidendrum dichotomum C.Presl* a una temperatura de $23\pm 2^{\circ}$ C, pH 5,7 y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.
- La BAP limitó el crecimiento de las plántulas, la formación de hojas y raíces, siendo una fitohormona desfavorable para la micropropagación de *Epidendrum dichotomum C.Presl* a una temperatura de $23\pm 2^{\circ}$ C, pH 5,7 y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

VII. RECOMENDACIONES

- Para una futura investigación es indispensable considerar una mayor cantidad de variables de análisis como el crecimiento axial y ramificación, con la finalidad de lograr un mayor panorama de los efectos generados por los reguladores de crecimiento.
- Es importante implementar una iluminación artificial adecuada, tomando en cuenta la exposición a la cual se encuentra el espécimen en su medio natural, esto con la finalidad de evitar efectos por la insuficiencia de luz que logren distorsionar o alterar los resultados, impidiendo una correcta interpretación de los efectos generados por los reguladores de crecimiento o cualquier otro estímulo estudiado.
- Al trabajar con cápsulas abiertas de orquídeas se debe considerar los efectos de la solución desinfectante sobre las semillas y como este puede afectar la integridad de los embriones logrando reducir la viabilidad de las semillas.
- Es importante conocer el hábito, morfología y fenología de cada especie que se desee estudiar con la finalidad de lograr una mejor interpretación de los efectos producidos al adicionar los reguladores de crecimiento o cualquier otro estímulo a estudiar.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adhikari, H., y Pant, B. (2019). In vitro seed germination and seedling growth of the orchid *Dendrobium primulinum* Lindl. *African Journal of Plant Science*, 13(12), 324-331.
- Alcantara, J. S., Acero, J., y Sanchez, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en crecimiento vegetal. *SciELO Analytics*, 17(1794–2470), 1–21. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Álvarez, J. A., Nuñez, F. N., Gutiérrez, H. P., Flores, J. C. del C., Carreño, F. V., y Angulo, E. P. (2015). *Guía de identificación de orquídeas con mayor demanda comercial*.
- Apolo, K. V. (2021). Evaluación de procedimientos en la conservación y germinación in vitro de semillas de la orquídea *Epidendrum nocturnum* (Jacq).
- Ariza, C., Deaza, E., Gil, A., y Orjuela, C. (2018). Efecto del almidón y dos fitorreguladores sobre la germinación de *Prosthechea* sp. *Revista Mutis*, 8(2), 37–46. <https://doi.org/10.21789/22561498.1403>
- Ayuso, J. (2017). Los frutos y las semillas de las orquídeas. *Orquídeas Silvestres Del Sistema Ibérico*.
- Benavente, L. H. (2020). *Densidad Poblacional y Frecuencias De Las Oquídeas Cites-Perú En El Caserío El Hormiguero, Distrito De El Carmen De La Frontera- Piura*. Universidad Nacional de Piura.
- Bidwell, R. G. S. (2003). *Fisiología Vegetal* (2a edición).
- Carranza, C., Trinidad, K. L., Reyes, H., Castillo, L. J., y Fortanelli, J. (2021). Efecto de extractos orgánicos naturales sobre la micropropagación de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews (Orchidaceae). *Biotechnia*, 23(1), 5–12. <http://biotechnia.unison.mx>
- Castillo, L. J., Maldonado, J. J., Alonso, Á. J., y Carranza, C. (2019). Efecto de 6-bencilaminopurina y nitrato de potasio sobre la micropropagación in vitro de *Laelia anceps* subsp. *anceps* (Orchidaceae). *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud*, XXII(1), 32–38.
- Castillo, L. J., Alonso, A. J., Fortanelli, J., y Carranza, C. (2022). Micropropagation of *Catasetum integerrimum* Hook (Orchidaceae) through seed germination and direct shoot regeneration from pseudobulbs and roots. *In Vitro Cellular*

& Developmental Biology-Plant, 58(2), 279-289

- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*.
- Chacón, M. A., Ponce, L. M., Muñiz, S. B., Huaracha, D. P., y Flores, K. (2017). Propagación in vitro de cuatro especies de orquídeas nativas de la región Cusco. *Cantua*, 16, 26–43. <https://doi.org/10.51343/cantu.v16i0.630>
- Coello, C. Y., Miceli, C. L., Orantes, C., Dendooven, L., y Gutiérrez, F. A. (2010). Plant growth regulators optimization for in vitro cultivation of the orchid *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressier & W.E.Higgins. *Gayana Botany*, 67(1), 19–26.
- Cossio, L. (2013). Reguladores del crecimiento en plantas. *Guía de Estudio UNNE*, 29. [https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Reguladores de Crecimiento en las plantas.pdf](https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Reguladores%20de%20Crecimiento%20en%20las%20plantas.pdf)
- Delgado, D. (2019). *Evaluación de Germinación y Desarrollo de Dos Especies del Género Epidendrum (Orchidaceae), Cundinamarca, Colombia*. Universidad Militar Nueva Granada.
- Dressler, R. L. (1993). Phylogeny and Classification of the Orchid Family. In *The Quarterly Review of Biology*. Dioscorides Press. <https://doi.org/10.1086/418905>
- Duarte, E. R., Mangeón, V., Küppers, G., Rocha, P., y Niella, F. (2017). Tamaño y viabilidad de semillas: implicancias en la evolución y conservación de *Phaius tankervilleae* (Orchidaceae). *Caldasia*, 39(2), 388–399. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v39n2.62184>
- Fernandez, E., Zorrilla, C., Garcia, A., y Amasifuen, C. (2019). *Manual De Conservación In Vitro en el Banco de Germoplasma del INIA*.
- Flores, K. (2019). Micropropagación de orquídeas a partir de semillas en condiciones de cultivo in vitro. In *Ayar*. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- García, J., Sánchez, L. M., Jiménez, R., y Solano, R. (2003). Familia Orchidaceae: Tribu Epidendreae. *Flora Del Bajío y de Regiones Adyacentes*. <https://doi.org/10.21829/fb.191.2003.119>
- Gil, A. I., Ariza, C. A., Castillo, L. M., Salgado, L. E., Sánchez, L. B., y Vanegas, L. E. (2019). Inducción de organogénesis in vitro con 6-bencilaminopurina en

- Cattleya trianae Linden & Rchb.f. *Revista U.D.C.A Actualidad and Divulgacion Cientifica*, 22(2), 1–9.
<https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1275>
- González, Y., y Cueva, A. A. (2014). Effects of photoperiod, plant growth regulators and culture media on in vitro growth of seedlings of *Cyrtorchilus loxense* (Lindl.) Kraenzl. An endemic and endangered orchid from Ecuador. *Revista Peruana de Biología*, 21(2), 189–192.
<https://doi.org/10.15381/rpb.v21i2.9826>
- Gutiérrez, H., Castañeda, R., & Nauray, W. (2019). *Epidendrum suinii* (Orchidaceae: Epidendroideae) a new record for peruvian flora. *Revista Peruana de Biología*, 26(2), 271–274. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i2.15142>
- Harahap, M. S., Harahap, F., Edi, S., y Rosmayati. (2020). In vitro multification of dendrobium sp. with plant growth regulator. *Journal of Physics: Conference Series*, 1485(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1485/1/012041>
- Harris, C., Landero, I., Alvarado, J. F., y Hernández, R. (2021). Germinación de orquídeas utilizando un método sencillo y económico, reproducible en ambientes no óptimos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5), 915–919. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2555>
- Jonasson, S. (2015). Las orquídeas: Engañosas joyas de nuestra flora. *Monografies de La Societat d'Historia Natural de Les Balears, 2015-Janua(20)*, 49–58.
- Jordán, M., y Casaretto, J. (2006). Hormonas y Reguladores del Crecimiento : Auxinas , Giberelinas y Citocininas. In *Fisiología Vegetal* (pp. 1–28).
- Lallana, V., y Lallana, M. (2003). Induccion De Callos, Utilizando La Tecnica De Cultivo “in Vitro.” In *Manual de practicas de fisiologia vegetal* (pp. 81–84).
 chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://www2.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/fisiologiaveg/m_didactico/manual_practicas/BDesarrolloED.pdf
- Lee, H., Laguna, A., Murguía, J., Elorza, P., Iglesia, L., García, B., Barredo, F., y Santana B, N. (2007). Regeneración in vitro de *Laelia anceps* ssp. *dawsonii*. *UDO Agrícola*, 1(1), 58–67.
- Ley N° 28711 Ley que establece el régimen de protección de los conocimientos colectivos de los Pueblos Indígenas vinculados a los Recursos Biológicos (24 de julio de 2022) <https://sinia.minam.gob.pe/normas/ley-que-establece->

regimen-proteccion-conocimientos-colectivos-pueblos.

- Mamani, B., Muriel, A. E., Maquera, A. N., y Nova, M. (2022). Germinación in vitro de *Epidendrum secundum* con diferentes agentes gelificantes y concentraciones de agua de coco. *Acta Nova*, 10(3), 345–359. <http://www.scielo.org.bo/pdf/ran/v10n3/1683-0789-ran-10-03-345.pdf>
- Martínez, J. C. (2011). Citoquininas. In *Fisiología Vegetal* (Issue 2, pp. 3–7). <https://georgiusm.files.wordpress.com/2017/11/tema-11-citoquininas.pdf>
- Mayo, A., Cázares, J., De La Cruz, E., y Flores, A. (2010). Germinación in vitro de Semillas y Desarrollo de Plántulas de Orquídeas Silvestres de Tabasco. In colección J. N. Rovirosa (Ed.), *Revista de Ciencias de la Vida* (primera ed).
- McSteen P. y Zhao Y. (2008). Plant Hormones and Signaling: Common Themes and New Developments. *Developmental Cell*, 14 (4), 467-473, ISSN 1534-5807, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S153458070800124X>
- Mechaca, R. A. (2011). Manual para la propagación de orquídeas. In *Comision Nacional Forestal* (1a edición, Vol. 1). http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/documentos/MANUAL_PARA_LA_PROPAGACION_DE_ORQUIDEAS.PDF
- Mercado, S. A. S., y Jaimes, Y. M. O. (2022). Inclusion of organic components in culture medium to improve the in vitro propagation of *Cattleya warscewiczii* and *Cattleya gaskelliana*. *South African Journal of Botany*, 148, 352-359.
- Mesa, D., Romero, A., y Cruz, A. M. (2002). Estudio de diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) en la micropropagación in vitro de la *Leucaena leucocephala* vc Perú. *Cuban Journal of Agricultural Science*.
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. (2020). *Plan nacional de conservación de las orquídeas amenazadas del Perú* (1a ed).
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. (2015). *Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI* (pp. 1–107).
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2018). *Diagnostico del aprovechamiento de orquideas en el Perú* (pp. 1–26). <https://www.serfor.gob.pe/portal/wp-content/uploads/2019/10/Diagnostico-orquideas.pdf>
- Ministerio del Ambiente. (2018). *Listado de especies de flora silvestre CITES - Perú*.
- Ministerio del Ambiente. (2019). *Mapa Nacional de Áreas Degradadas en*

- Ministerio del Ambiente. (2021). *Mapa Nacional De Ecosistemas Del Perú*.
- Mora, Y. (2021). *Morfogénesis in vitro DE Prosthechea vitellina (Lindley) W . E . Higgins*. Colegio de Postgraduados Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas.
- Nabors, M. W. (2006). *introducción a la botánica* (primera, Issue 1).
- Núñez, L. M., y Mariño, J. G. (2008). Micropropagación vegetal. *Universidade de Vigo*, 3(12), 60–53.
http://revbigo.webs.uvigo.es/images/revbigo/2008/Rebigo_2008_07.pdf
- Orjuela, C. C., y Deaza, E. A. (2017). Efecto del uso de dos reguladores de crecimiento (BAP - ANA) y nutrientes complejos en la germinación in vitro de la orquídea *Prosthechea* sp. In *Universidad de Cundinamarca*. Universidad de Cundimarca.
- Otero, J. T., y Bayman, P. (2009). Germinación simbiótica y asimbiótica en semillas de orquídeas epifitas. *Acta Agronómica*, 58(4), 270–276.
- Panduro, R. A. (2005). *Desarrollo de protocolo para la propagacion in vitro del Phragmipedium kovachii Atwood Dalstrom & Fernández (Orchidaceae) a partir de semillas*. Universidad Nacional De San Martín - Tarapoto.
- Parra, J. F., y Moscoso, W. A. (2022). *Germinación y desarrollo in vitro de semillas de Epidendrum secundum (Orchidaceae: Epidendrum) sometidas a 2 diferentes medios de cultivo: medio Carboximetilcelulosa (CMC) y medio Murashine y Skoog comercial (MS)* [Universidad El Bosque].
<http://www.scielo.org.bo/pdf/ran/v10n3/1683-0789-ran-10-03-345.pdf>
- Paudel R., M., Pradhan, S., y Pant, B. (2013). In vitro seed germination and seedling development of *Esmeralda clarkei* Rchb.f. (Orchidaceae). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 22(2), 107–111.
<https://doi.org/10.3329/ptcb.v22i2.14197>
- Pedraza, M. (2017). La propagación masiva de orquídeas (Orchidaceae); una alternativa de conservación de especies silvestres. *Agroproductividad*, 10(6), 31–36.
<https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1036/885>

- Pedroza, J. A. (2009). Efecto del carbón activado , ácido indolacético (AIA) y bencil amino purina (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq bajo condiciones in vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *XI*(1), 17–32.
- Pedroza, J. A., Serrato, L. C., y Castaño, M. (2010). Efecto del carbón activado y ácido indol acético en el desarrollo de protocormos de *masdevallia coccinea* lindl. y *maxillaria nutans* lindl: in vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *12*(2), 86–102.
- Pedroza, J., Fernández, C., y Suárez, S. A. (2007). Influencia del AIA, AG3 y Kinetina en el color, forma y tamaño de los protocormos de *Compartmentia falcata* (Orchidaceae) durante su germinación bajo condiciones in vitro. *Revista Científica*, *10*, 119–132. <https://doi.org/10.14483/23448350.301>
- Perea, M. (2009). Cultivo de Tejidos Vegetales in vitro. In *Universidad Nacional de Colombia* (Vol. 9, Issue 19). http://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/cultivosdetejidosvegetales_manualprac.pdf
- Purwanto, E., Arniputri, R. B., Handoyo, G. C., Yunus, A., Samanhudi, D., Sakya, A. T., Rahayu, M., Setyawati, A., y Brimantara, F. (2023). In Vitro Growth of *Dendrobium stratiotes* on Various Medium and Growth Regulator. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1165*(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1165/1/012019>
- Salazar, S. A. (2012). Germinación asimbiótica de semillas y desarrollo in vitro de plántulas de *Cattleya mendelii* Dombrain (Orchidaceae). *Acta Agronómica*, *61*(1), 69–78.
- Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre. (2015). Ley Forestal y de Fauna Silvestre Ley N° 29763 y sus reglamentos. In *MINISTERIO DE AGRICULTURA: Vol. 2 da* (p. 345).
- Singer, R. B. (2010). Morfología floral y polinización de orquídeas: El segundo libro de Charles Darwin Floral. *Acta Biológica Colombiana*, *14*, 337–350.
- Taiz, L., y Zeige, E. (2002). Plant physiology. In *Sinauer Associates* (3 ed). <https://doi.org/10.1017/9781108486392>
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2010) Fisiología vegetal. Quinta edición, Sinauer Associates Inc., Sunderland, 782 p.

- Turang, V. M., Tilaar, W., Pongoh, J., Runtunuwu, S. D., Tulung, S. M. T., y Pamandungan, Y. (2023). Effect Of Combination Of Ms Media And Growth Regulator Bap On Growth And Development Of *Dendrobium mirbelianum* Gaudich. Orchid Shoots In Vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*, 4(2), 352–360. <https://doi.org/10.35791/jat.v4i2.49386>
- Vega, P., Canchigniaz, H., González, M., y Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37, 33–39. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5158.3609>

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia.

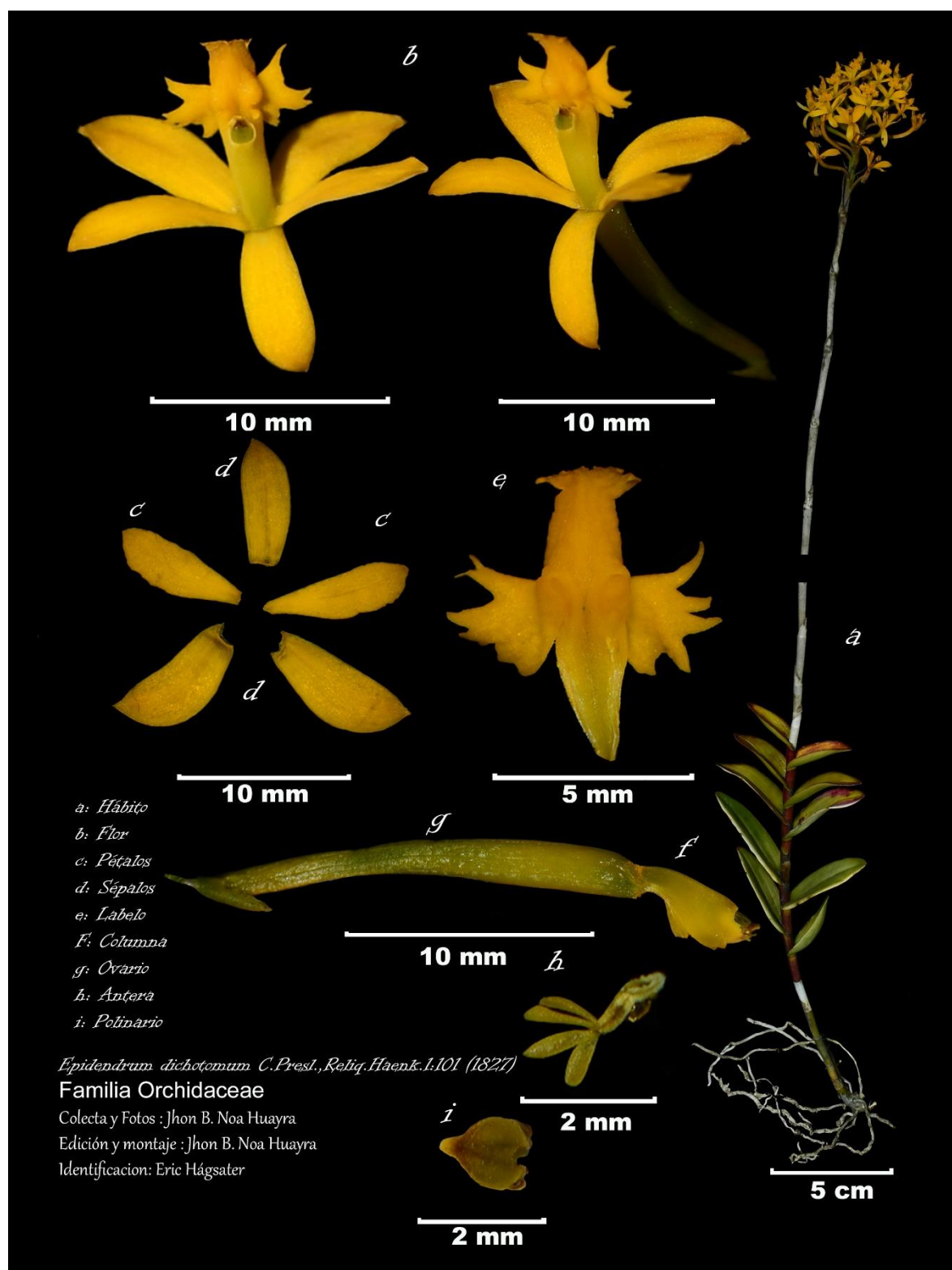
Efecto del ácido indolacético y bencilaminopurina en la germinación y desarrollo *in vitro* de *Epidendrum dichotomum*

C.Presl. Ayacucho - 2021

Autor: Bach. Jhon Brayan NOA HUAYRA **Asesores:** Dr. Gilmar PEÑA ROJAS

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuál es el efecto de las concentra de AIA y BAP en la germinación y propagación in vitro de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl.?	General Evaluar el efecto de las concentraciones de AIA y BAP en la germinación y propagación in vitro de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. Específicos • Determinar el efecto del AIA en el tiempo y porcentaje de germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. • Determinar el efecto BAP en el tiempo y porcentaje de germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. • Determinar el efecto del AIA en la propagación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl. • Determinar el efecto del BAP en la propagación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum dichotomum</i> C.Presl.	Antecedentes • Antecedentes internacionales • Antecedentes nacionales Marco conceptual o bases teóricas • Orquídeas • Germinación • Desarrollo • Crecimiento • Cultivo in vitro • Fitohormonas • Marco legal	Variable independiente Reguladores de crecimiento AIA y BAP Indicadores • AIA: 0,5 y 1,0 mg/L • BAP: 0,5 y 1,0 mg/L Variable dependiente Germinación Indicadores • Tiempo de germinación • Porcentaje de germinación Propagación <i>in vitro</i> Indicadores • Altura de la planta • Número de hojas • Número de raíz	Tipo de investigación básica-experimental Población Semillas contenidas por cápsula de <i>dic</i>, proveniente de la localidad de Tutumbaru. Muestra Germinación: 1 ml semillas Propagación: 30 Plántulas Colecta de muestra Colecta de Laboratorio • Desinfección • Siembre • Repique • Recolección de datos Toma de datos • Germinación: • Altura de Planta: • Número de hojas: • Número de raíces:

Anexo 2. Lamina botánica de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.



Anexo 3. Tiempo de germinación en *Epidendrum dichotomum* C.Presl.

Tratamientos		Repeticiones	Germinación (días)	Promedio	Desviación
T0	MS	I	63	60,7	4,04
		II	56		
		III	63		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I	63	60,7	4,04
		II	56		
		III	63		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I	56	56,3	0,58
		II	57		
		III	56		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I	84	86,3	4,04
		II	84		
		III	91		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I	84	88,7	8,08
		II	84		
		III	98		

Anexo 4. Porcentaje de germinación de semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl., a las 9 semanas después de la siembra.

Tratamientos		Repeticiones	Porcentaje de germinación	Promedio	Desviación
T0	MS	I	69,27	78,45	8,69
		II	86,54		
		III	79,54		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I	84,26	76,47	7,09
		II	74,76		
		III	70,39		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I	74,15	74,48	5,74
		II	68,91		
		III	80,37		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I	43,26	47,87	8,79
		II	42,34		
		III	58,00		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I	48,69	45,44	4,46
		II	40,35		
		III	47,28		

Anexo 5. Porcentaje de semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. que no lograron alcanzar la formación de órganos axiales, a las 9 semanas después de la siembra.

Tratamientos		Repeticiones	Inhibición de la formación de órganos axiales (%)	Promedio	Desviación
T0	MS	I	0,50	0,56	0,11
		II	0,68		
		III	0,49		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I	0,46	0,58	0,13
		II	0,57		
		III	0,72		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I	0,85	0,83	0,20
		II	1,01		
		III	0,62		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I	14,11	13,90	2,57
		II	16,35		
		III	11,23		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I	17,49	15,84	1,54
		II	15,59		
		III	14,43		

Anexo 6. Porcentaje de semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. que llegaron a formar callos, a las 9 semanas después de la siembra.

Tratamientos		Repeticiones	Callos (%)	Promedio	Desviación
T0	MS	I	1,51	1,17	0,35
		II	1,19		
		III	0,82		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I	8,80	6,26	2,24
		II	4,55		
		III	5,44		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I	8,05	7,93	0,82
		II	7,06		
		III	8,68		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I	2,51	2,37	0,47
		II	2,75		
		III	1,85		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I	0,58	1,95	1,20
		II	2,48		
		III	2,80		

Anexo 7. Crecimiento total en plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a los 105 días, posterior a la micropropagación.

Tratamientos		Repeticiones	Crecimiento (mm)	Promedio	Desviación
T0	MS	I	29,97	32,4	2,12
		II	33,43		
		III	33,80		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I	43,83	38,3	4,76
		II	35,47		
		III	35,73		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I	44,43	38,9	4,83
		II	36,27		
		III	35,87		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I	14,67	13,9	1,30
		II	12,37		
		III	14,57		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I	11,20	10,3	2,26
		II	7,73		
		III	11,97		

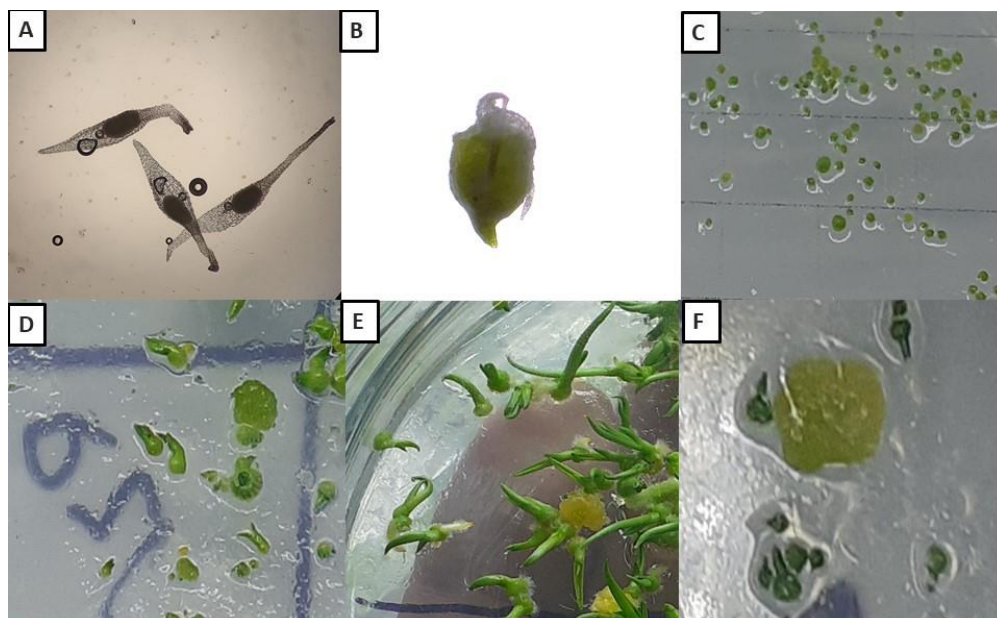
Anexo 8. Número de hojas desarrolladas en plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a los 105 días, posterior a la micropropagación.

Tratamientos		Repeticiones	Número de hojas	Promedio	Desviación
T0	MS	I	3,07	2,96	0,14
		II	2,80		
		III	3,00		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I	2,90	3,01	0,10
		II	3,10		
		III	3,03		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I	3,00	3,16	0,14
		II	3,27		
		III	3,20		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I	2,27	2,01	0,41
		II	2,23		
		III	1,53		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I	1,73	1,96	0,41
		II	2,43		
		III	1,70		

Anexo 9. Número de raíces desarrolladas en plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a los 105 días, posterior a la micropropagación.

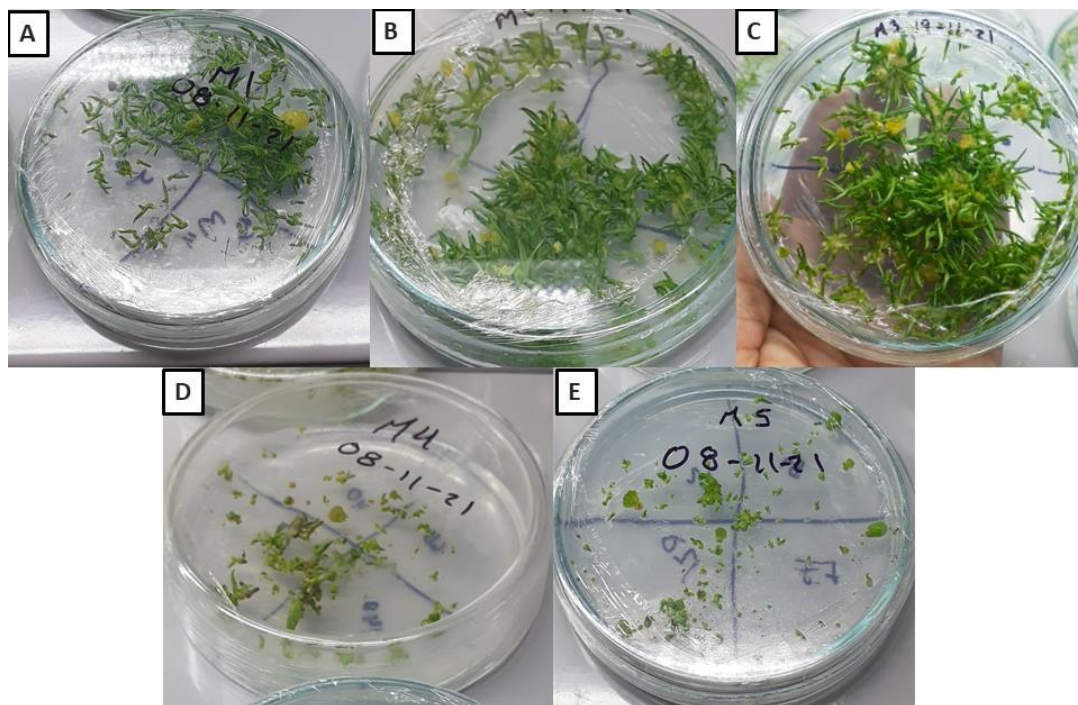
Tratamientos		Repeticiones	Número de raíces	Promedio	Desviación
T0	MS	I	3,37	3,2	0,22
		II	2,97		
		III	3,33		
T1	MS + 0,5 mg/L AIA	I	3,97	4,3	0,64
		II	5,03		
		III	3,90		
T2	MS + 1,0 mg/L AIA	I	4,43	4,4	0,20
		II	4,13		
		III	4,50		
T3	MS + 0,5 mg/L BAP	I	1,93	2,0	0,44
		II	2,43		
		III	1,57		
T4	MS + 1,0 mg/L BAP	I	1,30	1,0	0,32
		II	0,67		
		III	0,97		

Anexo 10. Germinación de *Epidendrum dichotomum* C.Presl.



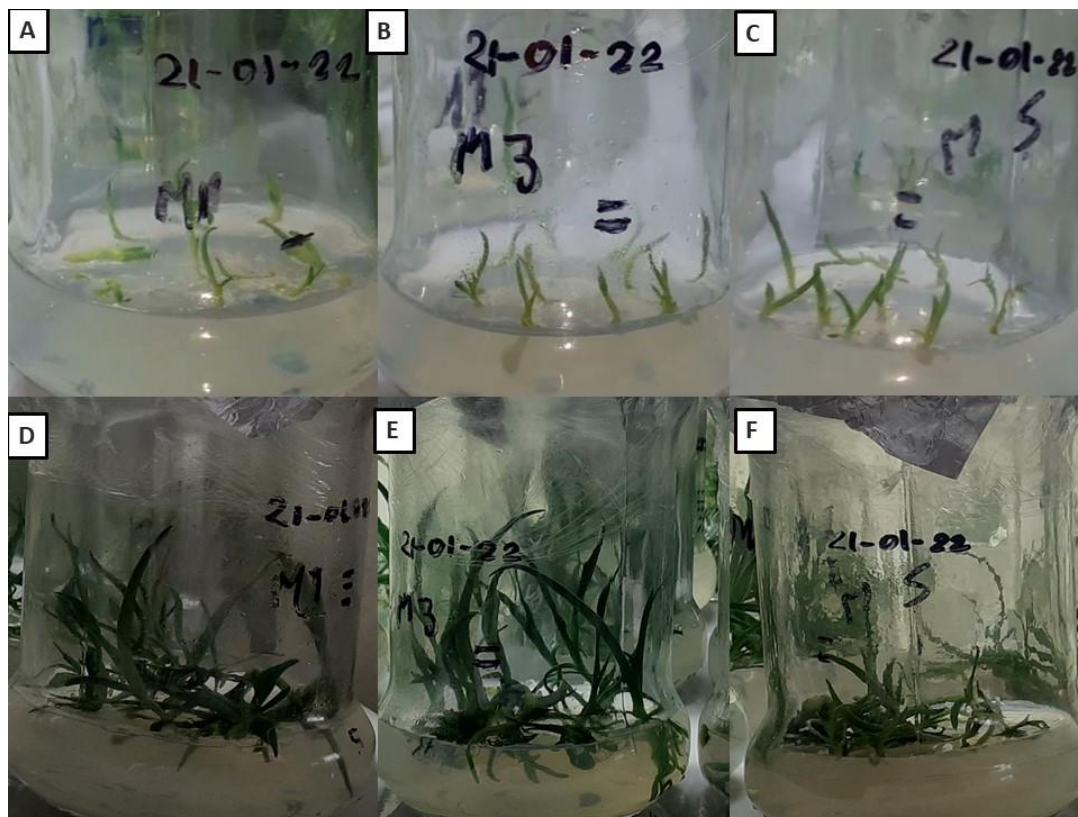
Nota. Germinación de semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. A) semillas 40x, B) ruptura de testa 40x, C) formación de protocormos, D) protocormo con brotes apicales, E) formación de órganos axiales y F) callo.

Anexo 11. Semillas germinadas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. a 7 semanas posterior de la siembra.



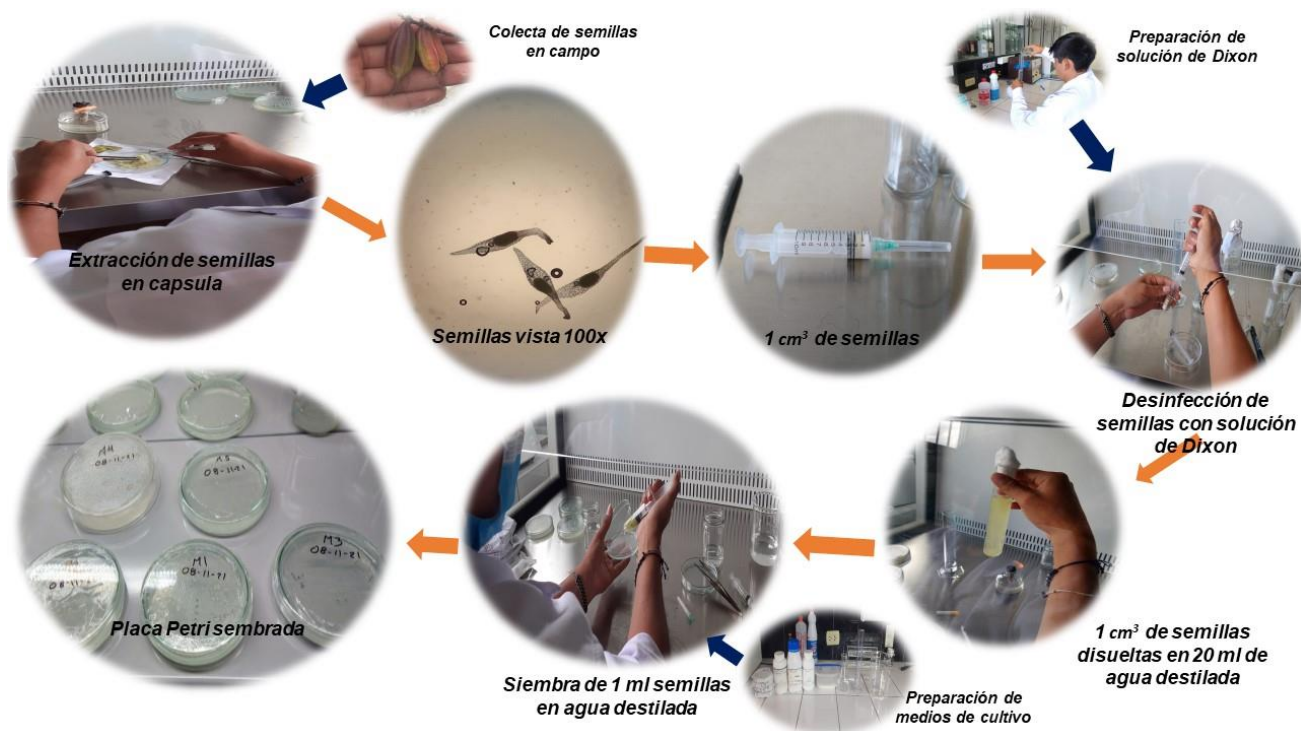
Nota. Tratamientos utilizados para la germinación de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. A) MS, B) MS + AIA 0,5 mg/L, C) MS + AIA 1 mg/L, D) MS + BAP 0,5 mg/L y E) MS + 1 mg/L.

Anexo 12. Desarrollo de las plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. sometida a las fitohormas AIA y BAP.



Nota. Progreso del crecimiento en plántulas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. desde la primera semana posterior a la micropropagación A) MS, B) MS + 1 mg/L AIA y C) MS + 1 mg/L BAP a la semana 15 posterior a la micropropagación.

Anexo 13. Protocolo para la desinfección y siembra de semillas de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. en medio de cultivo *in vitro*.



Anexo 14. Autorización con fines de investigación en flora silvestre emitido por el SERFOR.



Firmado digitalmente por PEO S
TORRES Mauro FAU 20562036927
soft
Cargo: Director
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 20.12.2021 16:37:51 -05:00

RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Magdalena Del Mar, 29 de Diciembre del 2021

RD N° D000172-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF

VISTOS:

La carta s/n, registrada con expediente 2021-0034603, de fecha 21 de setiembre de 2021, conteniendo la solicitud de autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de Áreas Naturales Protegidas, presentada por el señor **Jhon Brayan Noa Huayra** (en adelante, el administrado), de nacionalidad peruana, identificado con DNI N° 62302401; así como, el Informe Técnico N° D000021-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF-IAC, de fecha 29 de diciembre de 2021, y;

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 66° de la Constitución Política del Perú de 1993 establece que los recursos naturales, renovables y no renovables, son patrimonio de la Nación; y el Estado es soberano en su aprovechamiento;

Que, el artículo 9° de la Ley N° 26821, Ley Orgánica para el aprovechamiento sostenible de los Recursos Naturales, establece que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica sobre la diversidad, calidad, composición, potencialidad y gestión de los recursos naturales. Promueve, asimismo, la información y el conocimiento de los recursos naturales. Para estos efectos, podrán otorgarse permisos para investigación;

Que, mediante el artículo 13 de la Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, se creó el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR, como un organismo público técnico especializado con personería jurídica de derecho público interno, como pliego presupuestal adscrito al Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego; artículo en el que además se señala que el SERFOR es la autoridad nacional forestal y de fauna silvestre, ente rector del Sistema Nacional de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre, constituyendo su autoridad técnico normativa a nivel nacional, encargada de dictar las normas y establecer los procedimientos relacionados a su ámbito;

Que, a través del artículo 137° de la precitada Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, se declara de interés nacional realizar la investigación, el desarrollo tecnológico, la mejora del conocimiento y el monitoreo del estado de conservación del patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación;

Que, el artículo 140° de la Ley en mención, señala que el SERFOR evalúa y otorga la autorización para extracción de recursos forestales y de fauna silvestre con fines de investigación científica cuando: (i) se incluye especies amenazadas^{1,2}, (ii) especies consideradas en los Apéndices de CITES³, (iii) se realiza acceso a recursos genéticos sin

¹ Decreto Supremo N° 043-2006-AG. Aprueban categorización de especies amenazadas de flora silvestre.

² Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI. Actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre.

³ Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: JM70XXZ

Que, en adición a ello, debemos precisar que, la presente autorización no habilita el ingreso a predios privados, en cuyos casos, deberán gestionar la autorización de ingreso correspondiente ante la autoridad o titular, según corresponda;

Que, en ese sentido, en caso la ejecución de la investigación comprenda el ingreso a territorios de Comunidades Campesinas o Comunidades Nativas, previamente deberá solicitarse la autorización correspondiente;

Que, de conformidad con la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, aprobada por Ley N° 29763; el Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI; el Decreto Supremo N° 004-2019-JUS que aprueba el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444 Ley del Procedimiento Administrativo General; el literal g) del Artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI y su modificatoria aprobada mediante Decreto Supremo N° 014-2016-MINAGRI; la Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; así como, en ejercicio de la función delegada a través del artículo 1° de la Resolución de Dirección General N° D000627-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- OTORGAR la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de Áreas Naturales Protegidas (ANP), al señor **Jhon Brayan Noa Huayra**, identificado con DNI N° 62302401, correspondiéndole el Código de Autorización **N° AUT-IFL-2021-075**; para desarrollar el proyecto de tesis titulado: *Efecto del ácido indol acético y bencil amino purina en la germinación y desarrollo in vitro de Epidendrum sp. Ayacucho-2021*, conforme con lo señalado en el Cuadro N° 1 del **Anexo 1**; cuya vigencia se contabilizará desde el día siguiente hábil de su notificación.

Artículo 2.- Autorizar la participación del investigador señalado por el administrado, conforme al Cuadro N° 2 del **Anexo 2** de la presente resolución.

Artículo 3.- El administrado se encuentra sujeto al cumplimiento de lo presentado en el plan de investigación y al plazo correspondiente a once (11) meses; así como, la colecta de material biológico correspondiente a especies del género *Epidendrum* para fines taxonómicos y de propagación *in vitro* para realizar su experimento, de acuerdo con lo detallado en el Cuadro N° 3 del **Anexo 3** de la presente resolución. Los ejemplares de *Epidendrum* colectados serán depositados en el Herbario USM del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Asimismo, el administrado deberá cumplir con las obligaciones establecidas en la legislación forestal y de fauna silvestre, según lo señalado en la parte de considerativa de la presente resolución.

Artículo 4.- El administrado y el asesor de tesis deberán implementar las medidas dispuestas en el "Protocolo Sanitario Sectorial ante el COVID-19 en la Actividad Forestal" establecida en la Resolución Ministerial N°152-2020-MINAGRI, de fecha 28 de junio de 2020, en lo que resulte aplicable.

Artículo 5.- La presentación del Informe Final en versión digital como resultado de la autorización otorgada, se realizará de acuerdo con los términos señalados en el **ANEXO 4** de la presente resolución, la misma que será presentado dentro de los noventa (90) días calendarios posteriores a la culminación de la investigación.

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: JM70XXZ

Anexo 15. Certificación de especie *Epidendrum dichotomum* C.Presl.



**Herbario
AMO**

16 de enero de 2024

Bach. Jhon Brayan Noa Huayra
Laboratorio de Biología Celular y Molecular
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga de Ayacucho
Perú

Estimado Bachiller Noa Huayra:

En referencia a su solicitud de identificación en la orquídea ilustrada en la lámina proporcionada, de su colecta sin número, para el proyecto de tesis **Efecto de ácido indolacético y bencilaminopurina en la germinación y desarrollo *in vitro* de *Epidendrum sp.* Ayacucho-2021.**

He estudiado en detalle la lámina en comento y tentativamente la identifico como *Epidendrum dichotomum* C.Presl., Reliq. Haenk. 1: 101 (1827), descrita de un ejemplar de Huánuco.

De requerir más información no dude en solicitarla.

Quedo Atentamente,

Eric Hágsater
Orcid.org/0000-0002-2371-9427
herbamo@prodigy.net.mx
<https://herbarioamo.org>

HERBARIO AMO

Montañas Calizas 490, Col. Lomas de Chapultepec, 11000, Ciudad de México, MÉXICO. Tel.:55 5520-7860. herbamo@prodigy.net.mx

Anexo 16. Constancia de depósito Herbario San Cristóbal de Huamanga



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

Facultad de Ciencias Biológicas

HERBARIO SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"



CONSTANCIA DE DEPOSITO N° 002-2024-UNSCH-HSCH

EL RESPONSABLE DEL HERBARIO SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA, DEJA CONSTANCIA QUE:

El Bach. Jhon Brayan Noa Huayra, con DNI 62302401, ha entregado al Herbario San Cristóbal de Huamanga (HSCH), 1 muestra herborizada generada con el Proyecto de tesis titulado "**Efecto de ácido indolacético y bencilaminopurina en la germinación y desarrollo in vitro de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. Ayacucho-2021**", con permiso de autorización de investigación RD N° D000172-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF; colectado en el 2022 en el distrito de Sivia – Huanta, en la localidad de Tutumbaru. Este ejemplar será registrado e ingresará a la colección científica del Herbario San Cristóbal de Huamanga (HSCH).

Se expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 26 de marzo del 2024



Dr. Jesús De La Cruz Arango
Responsable del Herbario San Cristóbal de Huamanga (HSCH)

Ciudad Universitaria – Av. Independencia s/n - Ayacucho

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Jhon Brayan NOA HUAYRA
RESOLUCIÓN DECANAL Nº 142-2024-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del veintisiete de marzo del año dos mil veinticuatro; 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. Saturnino Martín TENORIO BAUSTISTA; Dr. Jesús DE LA CRUZ ARANGO (Miembro-Jurado); Dr. Walter Wilfredo OCHOA YUPANQUI (Miembro-Jurado); Dr. Gilmar PEÑA ROJAS (Miembro - Asesor); Dr. Raúl Antonio MAMANI AYCACHI (Miembro – 4to. Jurado), actuando como secretario docente el Mg. Jime Jack RIVERA VILLAR; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Efecto de ácido indolacético y bencilaminopurina en la germinación y desarrollo *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. Ayacucho-2021**; presentado por el Bach. Jhon Brayan NOA HUAYRA; el presidente encargado 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 del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas al sustentante. Culminada 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
Dr. Jesús DE LA CRUZ ARANGO	17	17	17
Dr. Walter Wilfredo OCHOA YUPANQUI	18	15	17
Dr. Raúl Antonio MAMANI AYCACHI	18	18	18
		PROMEDIO	17

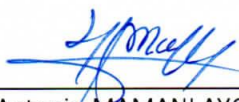
El sustentante alcanzó el promedio de 17 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso del sustentante y el público al Auditorio dando a conocer los resultados, e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las doce de la tarde; firmando al pie del presente en señal de conformidad.


Dr. Saturnino Martín TENORIO BAUSTISTA
Presidente


Dr. Jesús DE LA CRUZ ARANGO
Miembro - Jurado


Dr. Walter Wilfredo OCHOA YUPANQUI
Miembro – Jurado


Dr. Gilmar PEÑA ROJAS
Miembro- Asesor


Dr. Raúl Antonio MAMANI AYCACHI
Miembro – 4to. Jurado


Mg. Jime Jack RIVERA VILLAR
Secretario Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 54-2024-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Efecto de ácido indolacético y bencilaminopurina en la germinación y desarrollo *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C.Presl. Ayacucho-2021**, por JHON BRAYAN NOA HUAYRA; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 12%, 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-CU.

En consecuencia, 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, 18 de agosto de 2024.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología
Dr. Fidel R. Mujica Lengua
DIRECTOR

Efecto de ácido indolacético y bencilaminopurina en la germinación y desarrollo in vitro de Epidendrum dichotomum C.Presl. Ayacucho- 2021

por JHON BRAYAN NOA HUAYRA

Fecha de entrega: 16-ago-2024 09:02a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2433005740

Nombre del archivo: NOA-HUAYRA-Jhon-Brayan-_pregrado_tesis_-_2024_TURNITIN.pdf (673.58K)

Total de palabras: 10321

Total de caracteres: 53124

Efecto de ácido indolacético y bencilaminopurina en la germinación y desarrollo in vitro de Epidendrum dichotomum C.Presl. Ayacucho-2021

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	aprenderly.com Fuente de Internet	1 %
2	www.slideshare.net Fuente de Internet	1 %
3	Submitted to University of Agricultural Sciences Dharwad Trabajo del estudiante	1 %
4	revistas.unal.edu.co Fuente de Internet	1 %
5	revistas.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	1 %
6	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	1 %
7	vsip.info Fuente de Internet	1 %
8	hdl.handle.net Fuente de Internet	1 %

9	Submitted to Universidad Politecnica Salesiana del Ecuador Trabajo del estudiante	<1 %
10	s3.amazonaws.com Fuente de Internet	<1 %
11	www.scielo.org.bo Fuente de Internet	<1 %
12	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	<1 %
13	www.colibri.udelar.edu.uy Fuente de Internet	<1 %
14	citeseerx.ist.psu.edu Fuente de Internet	<1 %
15	revistas.utadeo.edu.co Fuente de Internet	<1 %
16	www.minem.gob.pe Fuente de Internet	<1 %
17	repositorio.uptc.edu.co Fuente de Internet	<1 %
18	www.zaragoza.unam.mx Fuente de Internet	<1 %
19	repositorio.urp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

20

ri.ues.edu.sv

Fuente de Internet

<1 %

21

Submitted to Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE)

Trabajo del estudiante

<1 %

22

revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo