

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025

Para optar el título profesional de:
BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: BIOTECNOLOGÍA

PRESENTADO POR:
Bach. Maily Betsabet JOSE CONDE

ASESOR:
Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN

AYACUCHO - PERÚ

2026

A mis padres y hermanos, por
ser mi apoyo y fortaleza en cada
desafío.

AGRADECIMIENTO

Con profunda gratitud, quiero agradecer a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y a los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, especialmente de la Especialidad de Biotecnología, por haberme brindado sus conocimientos, experiencias y enseñanzas a lo largo de mi formación profesional, contribuyendo de manera significativa en mi desarrollo académico y personal.

A mis padres y hermanos, por su amor incondicional, apoyo constante y palabras de aliento en cada etapa de mi vida.

A mi asesor, Mg. Reynán Cóndor Alarcón, por su tiempo, orientación, paciencia y acompañamiento durante la ejecución de este trabajo de investigación, así como por su valioso aporte académico que permitió fortalecer y enriquecer el desarrollo de la presente tesis.

A mis amigos Wilmer Torres Pampas, Jhon Brayan Noa Huayra y Jhonatan Onoc Flores, quienes me brindaron su apoyo y colaboración durante la ejecución de la investigación, compartiendo no solo su ayuda, sino también su amistad.

Y, por último, a la Blga. Katherin Ruth Taco Quispe, por ser una guía fundamental en el aprendizaje del Cultivo de Tejidos Vegetales, despertando en nosotros el interés y la pasión por esta área de la biotecnología. Gracias por su dedicación, transmitiéndonos no solo conocimientos, sino también la filosofía del *Monozukuri*, que nos inspira a hacer las cosas con excelencia y dedicación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xiv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Antecedentes	3
2.1.1 Antecedentes internacionales	3
2.1.2 Antecedentes nacionales	5
2.2 Marco conceptual	6
2.2.1 Orquídeas	6
2.2.1.1 Morfología	7
2.2.1.1.1 Morfología vegetativa	7
2.2.1.1.2 Morfología floral	8
2.2.1.1.3 Morfología del fruto y semilla	10
2.2.1.2 Género <i>Epidendrum</i>	10
2.2.2 Germinación	11
2.2.2.1 Semillas de orquídeas	12
2.2.3 Cultivo <i>in vitro</i>	13
2.2.3.1 Tipos de cultivo <i>in vitro</i>	13
2.2.3.2 Medios de cultivo <i>in vitro</i>	13
2.2.3.3 Etapas del proceso de cultivo <i>in vitro</i>	14
2.2.4 Fuente de carbono	16
2.2.4.1 Sacarosa	17

2.2.4.2	Glucosa	17
2.2.4.3	Fructosa	17
2.2.4.4	Maltosa	18
2.2.5	Marco legal	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1	Lugar de estudio	20
3.1.1	Ubicación política	20
3.1.2	Ubicación geográfica	20
3.2	Población y muestra	21
3.2.1	Población	21
3.2.2	Muestra	21
3.3	Tipo de investigación	21
3.4	Problema	21
3.5	Hipótesis	21
3.6	Metodología	21
3.7	Preparación de medio de cultivo	23
3.8	Desinfección de la cápsula de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	23
3.9	Siembra de semillas	24
3.10	Evaluación y recolección de datos	24
3.10.1	Evaluación	24
3.10.2	Recolección de datos	25
3.11	Análisis estadístico	26
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
V.	CONCLUSIONES	38
VI.	RECOMENDACIONES	39
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
	ANEXOS	43

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Lista de composiciones del medio Murashige T y Skoog F (1962).	14
Tabla 2. Ubicación geográfica de la Comunidad Campesina Lurinzayacc y Ananzayacc del distrito de Quinua; y Laboratorio de la Especialidad de Biotecnología.	20

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Partes de la flor. (A) Vista lateral. (B) Vista frontal de la flor (según Dressler, 1981).	9
Figura 2. Flor de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl. (Fotografía de elaboración propia).	11
Figura 3. Protocormo de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl. (Fotografía de elaboración propia).	12
Figura 4. Diferentes etapas del cultivo de tejidos vegetales (Kane, 2011, p. 183).	16
Figura 5. Mapa de ubicación geográfica del distrito de Quinua.	21
Figura 6. Semillas sin germinar (A) y semillas germinadas (B) de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl. (Fotografía de elaboración propia).	25
Figura 7. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la germinación <i>in vitro</i> de <i>E. megagastrium</i> Lindl. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$).	28
Figura 8. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre las semillas sin embrión (etapa 0) en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>E. megagastrium</i> Lindl., evaluado a las 15 semanas. Letras iguales no difieren significativamente (Tukey $p > 0.05$).	29
Figura 9. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la imbibición (etapa I) en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>E. megagastrium</i> Lindl., evaluado a las 4 semanas. Letras iguales no difieren significativamente (Tukey $p > 0.05$).	30
Figura 10. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la formación de protocormos (etapa II) en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>E. megagastrium</i> Lindl., evaluado a las 15 semanas. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $p < 0.05$).	31

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Lámina Lankester de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	44
Anexo 2. Exsiccata botánica de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	45
Anexo 3. Efecto de las fuentes de carbono en la germinación de <i>E. megagastrium</i> .	46
Anexo 4. Resultados del análisis estadístico de la Etapa 0 (semillas sin embrión)	46
Anexo 5. Resultados del análisis estadístico de la etapa I (imbibición)	47
Anexo 6. Resultados del análisis estadístico de la etapa II (formación de protocormo)	47
Anexo 7. Fotografías de campo en el Distrito de Quinua.	48
Anexo 8. Preparación del medio Murashige & Skoog (MS) y ajuste de pH	49
Anexo 9. Desinfección de la cápsula y siembra de semillas de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	50
Anexo 10. Semillas sin germinar (A) y semillas germinadas (B) de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	51
Anexo 11. Etapas de germinación de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	52
Anexo 12. Autorización otorgada por el SERFOR para la investigación en flora silvestre.	53
Anexo 13. Certificación de la especie de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	59
Anexo 14. Matriz de consistencia.	60

RESUMEN

Las orquídeas constituyen uno de los grupos de plantas con mayor diversidad biológica; sin embargo, muchas especies presentan bajas tasas de germinación natural debido a la ausencia de reservas nutritivas en sus semillas y a su dependencia de asociaciones micorrícicas, lo que limita su propagación y contribuye al riesgo de disminución de sus poblaciones. Con base en ello, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., especie de orquídea poco estudiada y distribuida en los bosques montanos andinos de Perú y Ecuador. Para ello, se empleó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos correspondientes a diferentes fuentes de carbono: sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa, incorporadas al medio de cultivo Murashige y Skoog (MS); se evaluaron las diferentes etapas de germinación durante 15 semanas mediante el seguimiento de los cambios morfológicos de las semillas y su progresión hacia la formación de protocormos, considerando la etapa 0 (semillas sin embrión), etapa I (hinchamiento e hidratación del embrión) y etapa II (formación de protocormos); los resultados evidenciaron que la fuente de carbono influyó significativamente en la germinación *in vitro* de *E. megagastrium* ($p < 0.05$), donde la maltosa presentó la mejor respuesta, alcanzando los mayores porcentajes de germinación y formación de protocormos (70%), seguida de fructosa (19%), glucosa (11%) y sacarosa (8%). Asimismo, se observó que no todas las semillas contenían embrión, registrándose semillas no viables en todos los tratamientos; la transición hacia la formación de protocormos fue más rápida y eficiente en el tratamiento con maltosa, lo que indica una mejor respuesta fisiológica frente a esta fuente de carbono. Se concluye que la maltosa constituye la fuente de carbono más adecuada para la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium*, representando una alternativa importante para el desarrollo de protocolos de propagación y conservación *ex situ* de esta especie andina.

Palabras clave: germinación *in vitro*, fuentes de carbono, protocormos, Orchidaceae, conservación *ex situ*.

I. INTRODUCCIÓN

Las orquídeas constituyen uno de los grupos de plantas más diversos y ecológicamente importantes del mundo, destacándose por su elevada variabilidad morfológica, adaptabilidad y valor ornamental; sin embargo, muchas especies enfrentan actualmente amenazas relacionadas con la baja tasa de germinación, pérdida de hábitat, fragmentación de ecosistemas y cambios ambientales, especialmente aquellas distribuidas en bosques montanos andinos. Dentro de este grupo se encuentra *Epidendrum megagastrium* Lindl., una especie nativa de Perú y Ecuador que habita entre los 2900 a 3700 m s.n.m., considerada una especie poco estudiada en aspectos relacionados con su propagación y conservación.

La germinación natural de las semillas de orquídeas presenta limitaciones debido a que poseen semillas diminutas y carentes de reservas nutricionales, dependiendo en condiciones naturales de asociaciones simbióticas con hongos micorrícicos (Arditti & Ghani, 2000). Frente a ello, el cultivo *in vitro* representa una herramienta biotecnológica importante para la propagación masiva y conservación de especies de orquídeas, permitiendo el desarrollo de semillas bajo condiciones controladas y asimbióticas.

Dentro de los factores que influyen en la germinación *in vitro*, la fuente de carbono desempeña un papel fundamental, ya que proporciona la energía necesaria para el crecimiento y desarrollo embrionario; en los medios de cultivo vegetal, la sacarosa ha sido la fuente de carbono más utilizada debido a su alta eficiencia como sustrato energético y su capacidad para favorecer el crecimiento y la morfogénesis de los tejidos cultivados (George et al., 2008; Yaseen et al., 2013). Sin embargo, investigaciones recientes han demostrado que la respuesta puede variar dependiendo de la especie y del tipo de carbohidrato utilizado, en algunas orquídeas, fuentes como la maltosa y la fructosa han mostrado resultados favorables en la germinación y formación de protocormos (Guaman et al., 2024; Bozdemir et al., 2018).

Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl.
- Evaluar las diferentes etapas de germinación *in vitro* de semillas de *Epidendrum megagastrium* Lindl.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes internacionales

Un estudio realizado por Guamán et al. (2024), evaluó el efecto de diferentes concentraciones de sacarosa en la germinación asimbiótica *in vitro* de semillas de *Cattleya máxima* Lindl.; en la cual la investigación se desarrolló empleando el medio de cultivo Knudson C, suplementado con distintos niveles de sacarosa (0, 20, 30 y 40 g/L). Los resultados evidenciaron altos porcentajes de germinación en todos los tratamientos, destacando el tratamiento sin sacarosa con un 91%, seguido de 87%, 86% y 74% para las concentraciones de 20, 30 y 40 g/L, respectivamente; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, lo que indica que la sacarosa no ejerce una influencia directa en la germinación. En cambio, factores como la viabilidad de las semillas y la composición del medio de cultivo desempeñan un papel determinante.

Mamani et al. (2022), en su investigación sobre *Epidendrum secundum* Jacq., examinaron medios convencionales (MS, VW, KC) y también medios alternativos de menor calidad (PA) que se basan en sales hidropónicas, a los que se les agregó 10% y 20% de agua de coco y diferentes gelificantes (gelrite, agar y carragenina); las semillas fueron desinfectadas utilizando una solución de 0.5% de NaClO durante 15 minutos y se cultivaron a 25°C con un fotoperiodo de 16/8 horas durante 105 días. Los resultados revelaron que la germinación llegó al 85.8% en el medio que contenía gelrite, sales hidropónicas y 20% de agua de coco, superando al medio con 10% de agua de coco que logró un 78.1%. Sin embargo, en presencia de carragenina, hubo una tasa de mortalidad del 1.8% entre los protocormos.

Durante el proceso de germinación y crecimiento *in vitro* de las semillas de *E. secundum* en dos tipos de medios de cultivo: agar de carboximetilcelulosa (CMC) y el medio comercial Murashige y Skoog (MS), se observó que el medio MS promovía un buen desarrollo y germinación. Además, encontraron un alto porcentaje de germinación en los dos medios utilizados, concluyendo que la siembra óptima de las semillas de *E.*

secundum debe realizarse utilizando una mezcla de ambos sustratos, con una mayor proporción de MS en relación con el CMC (Parra, 2022).

Apolo (2021), examinó técnicas para la conservación y la germinación *in vitro* de *Epidendrum nocturnum* Jacq., una especie en peligro de extinción en Ecuador; las semillas se mantuvieron durante cinco meses a temperatura ambiente o en refrigeración (4 °C) y se analizaron seis tratamientos en medio MS con 0.5% de carbón activado, complementados con BAP (6-Bencilaminopurina), agua de coco o GA₃ (Ácido Giberélico), a dos temperaturas (25°C y 4°C), utilizando un diseño completamente aleatorio y factorial (5 repeticiones). El tratamiento más efectivo resultó ser el medio suplementado con agua de coco a 25 °C, alcanzando el mayor porcentaje de germinación a los 15 días (2.64%); asimismo, presentó el menor índice de contaminación interna del 65% causada por hongos durante ese periodo. No se registró germinación en un segundo intento, aunque se observó una disminución de la contaminación externa a los 20 días (46–58%), lo que se relacionó con modificaciones en el protocolo de desinfección.

Delgado (2019), visualizó que la aplicación de hipoclorito de sodio contribuye a la escarificación de las semillas, lo que facilita la entrada de la solución de tetrazolio en las semillas de *E. secundum* y *Epidendrum ibaguense* Kunth., siendo esta última la que mostró resultados menos positivos; de igual manera, al aumentar la concentración de hipoclorito, se reduce notablemente el porcentaje de germinación; por lo tanto, la concentración ideal es de un 0.5% de hipoclorito de sodio. Tras 45 días de observación, notó que el porcentaje de germinación en cultivo *in vitro* en medio MS a 22°C para ambas especies fue bastante bajo.

Bozdemir et al. (2018), realizaron un estudio con el objetivo de evaluar cómo diferentes tipos y concentraciones de azúcares influyen en la germinación y propagación *in vitro* de *Orchis sancta* L., una orquídea que actualmente se encuentra amenazada debido a su extracción excesiva. Para ello, utilizaron el medio de cultivo Van Waes-Debergh (VWD), al cual añadieron distintas fuentes de carbohidratos como sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa y galactosa en concentraciones que variaron entre 0 y 100 g/L; a partir de los resultados, se observó que no todos los azúcares actúan de la misma manera, ya que tanto el tipo como la cantidad influyen en cada etapa del desarrollo. La mayor germinación se obtuvo con maltosa a 40 g/L, mientras que concentraciones altas de azúcares tendieron a disminuir este proceso; en cuanto a la formación de protocormos, la sacarosa fue la que mostró mejores resultados, sobre todo en concentraciones elevadas; por otro lado, el desarrollo de brotes se vio favorecido principalmente por la

fructosa y la sacarosa, mientras que la galactosa presentó un comportamiento desfavorable en todas las etapas evaluadas.

2.1.2 Antecedentes nacionales

Noa (2024), llevó a cabo un estudio sobre la propagación *in vitro* de *Epidendrum dichotomum* C. Presl., centrado en cómo los reguladores AIA (Ácido Indol-3-Acético) y BAP (6-Bencilaminopurina) influyen en la germinación y crecimiento. Se recolectaron semillas en Tutumbaru, Sivia (Ayacucho), y se cultivaron en medio MS con 30 g/L de sacarosa, 7 g/L de agar y pH 5,7; aplicaron cinco tratamientos: control (MS), MS + AIA (0.5 y 1.0 mg/L) y MS + BAP (0.5 y 1.0 mg/L), bajo condiciones controladas de incubación (23 ± 2 °C, 16/8 h luz/oscuridad). En esta investigación se observó que el porcentaje y el tiempo de germinación de las semillas de *E. dichotomum* no se alteran con el AIA, sin embargo, el uso de BAP redujo el porcentaje de germinación a menos del 50% y extendió el tiempo hasta 13 semanas; además, durante la fase de desarrollo, el AIA promovió un mayor crecimiento de raíces, alcanzando un promedio de 4,4 raíces por plántula, mientras que el BAP impidió un crecimiento y desarrollo adecuados.

Gonzales-Arteaga et al. (2024), realizaron una investigación que buscaba desarrollar un método eficaz para la germinación *in vitro* de semillas y la producción de protocormos de la especie *Epidendrum catillus* Rchb.f. & Warsz, evaluando la influencia de seis medios de cultivo diferentes. Las semillas, obtenidas en su punto óptimo de madurez fisiológica en Grapanazú (Oxapampa, Pasco, Perú), se cultivaron siguiendo un esquema de bloques completos al azar. Los resultados revelaron que los medios Knudson y MS al 75% y 100%, mejorados con 100 ml/L de agua de coco, además del MS 100% con AG₃ (3,0 mg/L), favorecieron notablemente la germinación y el desarrollo de protocormos a los 64 y 71 días posteriores a la siembra, en comparación con los medios que contenían ANA y mayores dosis de AG₃.

Vilcherrez (2019), realizó un estudio en el Laboratorio de Biotecnología de la UNPRG–Lambayeque sobre la micropropagación *in vitro* de *Cattleya máxima* Lindl. y *Epidendrum* sp. donde abarcaron la germinación hasta el crecimiento de plántulas. Utilizando un diseño totalmente al azar que incluía 18 tratamientos y 15 repeticiones, examinó el efecto de la harina de plátano, el agua de coco y el carbón activado en medios MS enriquecidos. Los hallazgos revelaron que el medio MS combinado con un 20% de agua de coco y 40 g/L de harina de plátano logró una tasa de germinación de hasta el 96-97% en ambas especies, además de una supervivencia y diferenciación de protocormos del 100%, junto con un significativo crecimiento vegetativo (altura, hojas, brotes) gracias a los suplementos de carbón activado.

2.2 Marco conceptual

2.2.1 Orquídeas

La familia de las orquídeas (ORCHIDACEAE) representa el grupo de plantas más diverso a nivel mundial, con al menos 28 mil especies y más de 700 géneros; estas plantas están presentes en todas las áreas del planeta donde se puede desarrollar la vegetación, exceptuando la región de la Antártida; estas ocupan todos los biomas terrestres, a excepción de los desiertos más cálidos y los más helados. Cerca del 50% de la biodiversidad mundial de orquídeas se encuentra en las zonas tropicales de América, las cuales conforman un área conocida como el Neotrópico; es especialmente notable en los países de la cordillera de los Andes, sobre todo en Colombia, Ecuador y Perú (Christenhusz & Byng, 2016).

Las orquídeas son plantas herbáceas perennes que presentan diversas formas de vida, incluyendo especies que, al igual que muchas otras plantas, están fijadas al suelo y son clasificadas como terrestres. Sin embargo, la mayoría de las orquídeas son epífitas, lo que significa que se desarrollan sobre los árboles, utilizándolos como soporte para captar luz; estas orquídeas epífitas se limitan a las áreas tropicales del planeta, en contraste con las terrestres, que tienen una distribución a nivel global, desde un poco más al norte del Círculo Polar Ártico hasta la región de la Tierra del Fuego en el sur. En el área tropical, algunas orquídeas son plantas trepadoras que pueden alcanzar considerables longitudes, como las vainillas, del género *Vanilla*, y también hay especies que crecen en rocas (Edquén et al., 2024).

Se distinguen principalmente por la estructura de sus flores, las cuales presentan tres sépalos y tres pétalos, donde uno de ellos se transforma en una estructura especial llamada labelo, que suele ser la parte más llamativa y cumple una función importante en la polinización; además, muchas especies desarrollan pseudobulbos, que son tallos modificados encargados de almacenar agua y nutrientes, permitiéndoles adaptarse mejor a diferentes condiciones ambientales. Sus frutos son cápsulas que contienen miles de semillas muy pequeñas, lo que influye directamente en su proceso de reproducción y germinación (MINAM, 2017).

De acuerdo con su forma de crecimiento, las orquídeas pueden ser monopodiales o simpodiales; las monopodiales crecen a partir de un solo eje principal de forma continua y no presentan rizomas, mientras que las simpodiales desarrollan rizomas, pseudobulbos y nuevos brotes laterales que permiten su expansión. Asimismo, según el lugar donde crecen, pueden clasificarse en epífitas, terrestres o saxícolas; las epífitas son las más comunes y se desarrollan sobre troncos y ramas de árboles sin alimentarse de ellos, aprovechando la humedad del ambiente, el agua de lluvia y los nutrientes

acumulados en la corteza. Las terrestres crecen directamente en el suelo y las saxícolas se desarrollan sobre rocas o superficies pedregosas (MINAM, 2017).

Las orquídeas tienen una gran importancia ornamental, ecológica y económica, razón por la cual muchas especies se encuentran protegidas debido a la extracción excesiva y la pérdida de su hábitat natural; frente a ello, el cultivo *in vitro* se ha convertido en una alternativa importante para su propagación y conservación, ya que permite producir plántulas en condiciones controladas dentro de laboratorio, reduciendo la extracción de plantas silvestres; esta técnica contribuye no solo a la preservación de la biodiversidad, sino también al aprovechamiento sostenible de estas especies, especialmente en programas de conservación y producción comercial (MINAM, 2017).

2.2.1.1 Morfología

La familia Orchidaceae presenta una diversidad morfológica que, según Dressler (1993), es el resultado de millones de años de coevolución con sus polinizadores y de adaptaciones a ambientes específicos.

2.2.1.1.1 Morfología vegetativa

a. Hábito de crecimiento

Dressler (1981), distingue tres grandes hábitos de crecimiento en las orquídeas; el simpodial, en el que cada nuevo brote reemplaza al anterior; el monopodial, donde el tallo principal crece indefinidamente desde un solo meristemo apical; y formas intermedias que combinan características de ambos.

b. Raíces

Las raíces de las orquídeas epífitas poseen una estructura anatómica única que se denomina *velamen radicum*, que actúa como una cubierta pluriestratificada de células muertas con capacidad higroscópica, que le permite a la planta absorber agua y minerales disueltos directamente del aire húmedo y lluvia; el velamen puede ser de color blanco plateado cuando está seco y se torna verde translúcido al hidratarse (Benzing, 1990).

c. Tallos y pseudobulbos

Según Dressler (1993), en las orquídeas simpodiales, el tallo modificado que actúa como órgano de reserva es el pseudobulbo que varía en forma (globosa, ovoides, cilíndricos y comprimidos), tamaño y número de entrenudos; esta variabilidad responde a presiones ecológicas específicas relacionadas con la disponibilidad de agua y nutrientes en microhábitats colonizados. Las especies sin pseudobulbos, como las del género *Lepanthes*, presentan tallos suculentos que cumplen funciones similares de almacenamiento (Chase et al., 2015).

d. Hojas

Mechaca (2011), menciona que las orquídeas presentan hojas simples, sin divisiones, foliolos y no tienen aserraduras, ni espinas; en la mayoría se visualizan hojas con venación reticulada y paralela. Los tipos de hojas son:

- Hojas plegadas
- Hojas conduplicadas
- Hojas cilíndricas o teretiformes

2.2.1.1.2 Morfología floral

Dressler (1981), la define como “la flor perfecta de adaptación entre forma y función polinizadora”; morfológicamente es una flor trómera, hermafrodita en la mayoría de los casos, con tres sépalos, dos pétalos laterales y un tercer pétalo modificado llamado labelo, y con órganos reproductores fusionados en una estructura única denominada columna o ginostemio.

a. Sépalos

Dressler (1993) distingue tres tipos principales de sépalos:

- Sépalos libres y similares entre sí.
- Sépalo dorsal diferenciado y laterales más o menos fusionados en un sinsépalo.
- Sépalos con extensiones filiformes o caudas.

b. Pétalos y labelo

Una característica distintiva de las orquídeas es la presencia de un verticilo externo conformado por tres sépalos: uno ubicado en la parte dorsal y dos laterales, los cuales generalmente presentan forma y color semejantes. En algunos géneros, los sépalos laterales pueden encontrarse fusionados de manera total o parcial, formando una sola estructura central conocida como sinsépalo, como ocurre en géneros como *Lepanthes*, *Phragmipedium* y algunas especies de *Pleurothallis* (Collantes, 2014).

Según Pijl & Dodson (1966), en muchas especies el labelo presenta callos, quillas o papilas que son únicos en cada especie y refuerzan la especificidad polinizadora; el labelo puede ser:

- Tubular
- Cucúlido
- Trilobulado
- Imitador

c. Columna o ginostemio

Es la estructura más característica y diagnóstica de la familia Orchidaceae a nivel morfológico; esta resulta de la fusión completa del estilo y el estigma pistilares con el filamento y la antera estaminales en una sola estructura compacta que puede ser corta

o robusta, larga y delgada, curvada, con alas laterales, pie basal prominente, o con un róstelo especialmente desarrollado que forma el viscidio del polinario. Es una función única entre las angiospermas que permite un control preciso del proceso de polinización y reduce drásticamente la autopolinización (Dressler, 1981).

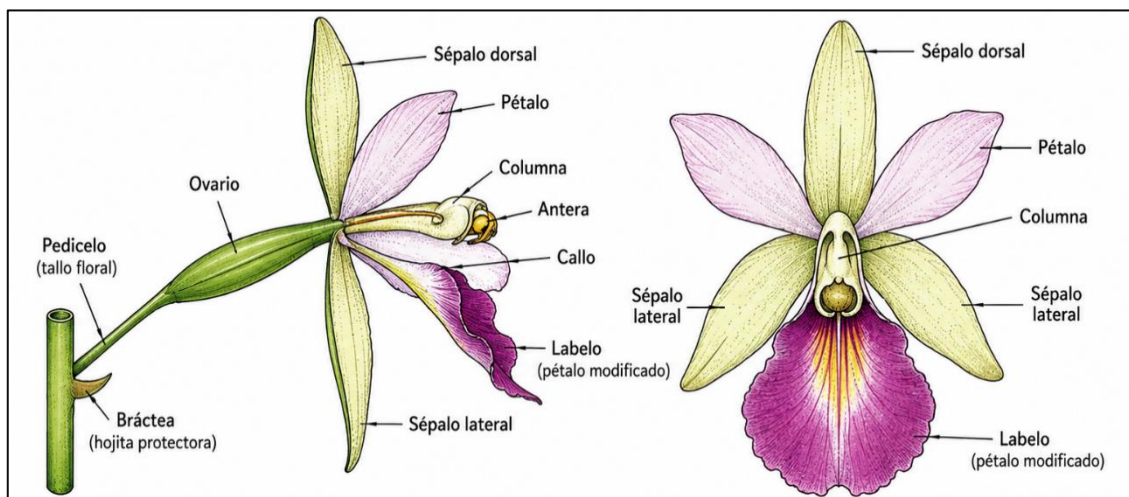
d. Polinario

El polinario es la estructura responsable de la dispersión del polen en la mayoría de las orquídeas y constituye una de sus principales adaptaciones morfológicas; está conformado por las políneas, que son masas de granos de polen agrupados; el caudículo, que conecta las políneas con el viscidio; y el viscidio, una estructura pegajosa que facilita la adhesión al polinizador. El número de políneas varía generalmente entre 2 y 8, aunque en las orquídeas más evolucionadas suele ser de 2 a 4, lo que se asocia con una mayor eficiencia en la polinización y en la transferencia del material genético (Dressler, 1993).

e. Estigma

Según Darwin (1862), el estigma de las orquídeas presenta una forma particular, ya que suele ser viscoso, cóncavo y se ubica generalmente en la parte ventral de la columna, en posición opuesta a las anteras. La separación entre el estigma y las anteras, conocida como hercogamia, funciona como un mecanismo que evita la autopolinización; además, el róstelo actúa como una barrera física entre ambos órganos, favoreciendo así la polinización cruzada.

Figura 1. Partes de la flor. (A) Vista lateral. (B) Vista frontal de la flor (según Dressler, 1981).



2.2.1.1.3 Morfología del fruto y semilla

a. Fruto

El fruto de las orquídeas es una cápsula loculicida que se abre longitudinalmente para liberar las semillas. Puede presentar diferentes formas, como cilíndrica, fusiforme o elipsoide, y su tiempo de maduración varía según la especie y las condiciones ambientales (Dressler, 1993).

b. Semilla

Son pequeñas y numerosas, carecen de endospermo casi por completo; es decir, no poseen reservas nutritivas suficientes para germinar por sí solas. Debido a ello, dependen de la asociación con hongos micorrícicos específicos que les proporcionan los nutrientes necesarios durante las primeras etapas de desarrollo (Arditti & Ghani, 2000).

2.2.1.2 Género *Epidendrum*

El género *Epidendrum*, descrito por Linneo en 1753, es uno de los más grandes y diversos dentro de la familia Orchidaceae, e incluso uno de los más amplios del reino vegetal; se han registrado más de 1500 especies, distribuidas desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina, lo que lo convierte en uno de los géneros de orquídeas más representativos de la región neotropical. Su nombre proviene del griego *epi* (sobre) y *dendron* (árbol), haciendo referencia a que muchas de sus especies crecen sobre los árboles, es decir, tienen hábito epífita (Hángsater & Guzmán, 1998).

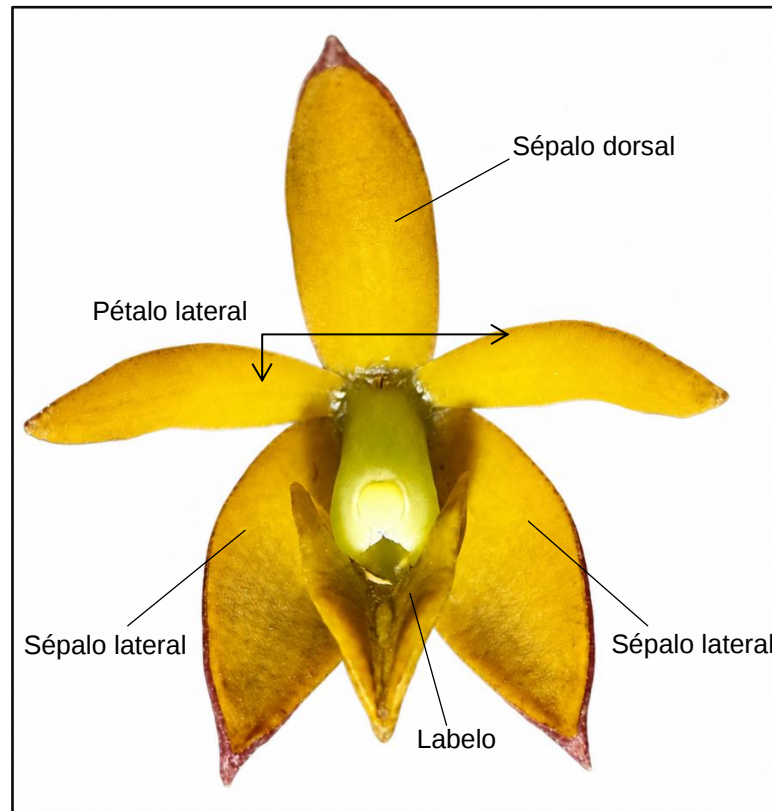
La importancia de *Epidendrum* no solo radica en la gran cantidad de especies que posee, sino también en su valor ecológico y ornamental; estas orquídeas cumplen un papel importante al servir como fuente de alimento para polinizadores especializados y al formar parte de diversos ecosistemas como bosques nublados, páramos, bosques secos y zonas costeras. Además, muchas especies son apreciadas en la horticultura por la belleza de sus flores; en el Perú, se han registrado más de 300 especies de este género, varias de ellas endémicas de los Andes centrales, lo que convierte al país en una zona clave para la diversidad y conservación de estas orquídeas (León et al., 2006). La ubicación taxonómica utilizada se basa en el sistema propuesto por Cronquist et al. (1981).

Dominio	: Eukarya
Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Orden	: Orchidales
Familia	: Orchidaceae

Género : Epidendrum

Especie : *Epidendrum megagastrium* Lindl. (1853)

Figura 2. Flor de *Epidendrum megagastrium* Lindl. (Fotografía de elaboración propia).



2.2.2 Germinación

En términos generales, la germinación es el proceso mediante el cual la semilla inicia su desarrollo hasta convertirse en una pequeña planta capaz de vivir de manera independiente, sin depender de las reservas nutritivas almacenadas en ella. Para que este proceso se lleve a cabo, es necesario que existan condiciones adecuadas tanto en la propia semilla como en el ambiente que la rodea (De la Cuadra, 1993).

Arditti & Ghani (2000), señalan que la germinación de las semillas de orquídeas se considera iniciada cuando aparece el protocormo, una estructura globosa característica de la familia Orchidaceae que representa una etapa clave en el desarrollo temprano de la planta. Esta estructura se forma cuando el embrión rompe la testa de la semilla y comienza a mostrar actividad metabólica activa, indicando que el proceso germinativo se ha establecido con éxito; el protocormo actúa como una fase intermedia entre la semilla y la plántula, ya que en esta etapa aún no se observan raíces ni hojas verdaderas, pero sí se inicia la absorción de nutrientes y la diferenciación de tejidos necesarios para el crecimiento posterior. Este proceso puede ocurrir tanto de forma simbiótica, mediante la asociación con hongos micorrícicos en condiciones naturales,

como de manera asimbiótica en medios de cultivo *in vitro*; a partir de la formación visible del protocormo, los eventos posteriores, como la aparición de primordios foliares, raíces y el desarrollo de la plántula, corresponden al desarrollo postgerminativo.

Etapas de germinación:

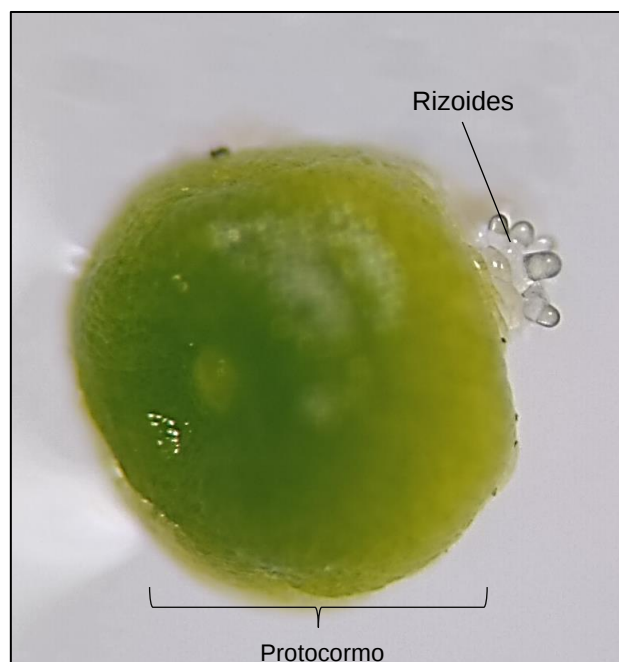
Etapas 0: Semilla en estado quiescente

Etapas 1: Imbibición

Etapas 2: Ruptura de la testa

Etapas 3: Formación del protocormo

Figura 3. Protocormo de *Epidendrum megagastrium* Lindl. (Fotografía de elaboración propia).



2.2.2.1 Semillas de orquídeas

Las orquídeas, producen semillas muy especializadas que se caracterizan por su reducido tamaño y simplicidad estructural en comparación con otras angiospermas; estas semillas no presentan endospermo, contienen un embrión poco desarrollado formado por pocas células y están recubiertas por una testa permeable con estructura reticulada; debido a esta composición tan limitada, en condiciones naturales requieren una fuente externa de carbono y nutrientes para poder desarrollarse, estableciendo así una estrecha relación con hongos micorrícicos presentes en el suelo (Arditti & Ghani, 2000; Rasmussen, 1995).

Además, las semillas de orquídeas son diminutas, increíblemente ligeras y se generan en vastas cantidades; su longitud suele oscilar entre aproximadamente 0.05 mm y 6.0 mm, presentando una diferencia de hasta 120 veces entre las más largas y las más cortas conocidas dentro de esta familia. La semilla calificada como “más ancha”, que

mide 0.9 mm, es 90 veces más ancha que la “más delgada”, que alcanza los 0.01 mm (considerando que las semillas de orquídea tienen una forma tubular o esférica, ancha y delgada se refieren realmente al diámetro). Los pesos documentados de las semillas varían desde 0.31 µg hasta 24 µg, lo que representa una diferencia de 78 veces. La cantidad de semillas por fruto puede ser tan alta como 4000000 o tan baja como 20 a 50, lo que implica una variación de entre 80000 y 200000 veces. Las testas suelen ser translúcidas, y las paredes celulares externas pueden ser lisas o tener un patrón de reticulación, según Arditti & Pridgeon (1997).

2.2.3 Cultivo *in vitro*

El cultivo *in vitro* es una técnica biotecnológica que consiste en el crecimiento y desarrollo de células, tejidos, órganos o plantas completas en un medio de cultivo artificial, bajo condiciones controladas y completamente estériles. Este proceso se lleva a cabo en un ambiente aséptico, donde se utilizan medios nutritivos especialmente formulados que contienen sales minerales, vitaminas, reguladores de crecimiento y una fuente de carbono, comúnmente sacarosa, necesarios para favorecer el desarrollo adecuado del material vegetal (Sáñez & Abram, 1995).

2.2.3.1 Tipos de cultivo *in vitro*

Según Pierik (1990), los tipos de cultivo *in vitro* son:

- Cultivo de plantas intactas
- Cultivo de embriones
- Cultivo de meristemos y yemas
- Cultivo de órganos aislados
- Cultivo de callo
- Cultivo de células aisladas
- Cultivo de protoplasto

2.2.3.2 Medios de cultivo *in vitro*

George et al. (2008), un medio de cultivo *in vitro* es una solución nutritiva que proporciona todos los compuestos necesarios para el crecimiento y el desarrollo del explante; un medio de cultivo estándar debe contener los siguientes componentes:

- **Macronutrientes minerales:** nitrógeno (NO_3^- y NH_4^+), fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre.
- **Micronutrientes minerales:** hierro (en forma de quelato FeEDTA), manganeso, zinc, boro, cobre, molibdeno y cobalto.
- **Fuente de carbono:** generalmente sacarosa (20-30 g/L), que sirve como fuente energética principal y agente osmótico. También se emplean glucosa, fructosa, maltosa o almidón según la especie.

- **Vitaminas:** tiamina (B₁), ácido nicotínico (B₃) y piridoxina (B₆) son las más utilizadas. El inositol, aunque técnicamente un azúcar, se incluye frecuentemente como cofactor vitamínico.
- **Reguladores de crecimiento vegetal (opcional):** auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y brasinoesteroides.
- **Agente gelificante (medios sólidos):** agar (6–8 g/L) o gelrite (Phytigel, 2–3 g/L) para dar consistencia sólida o semisólida al medio.
- **Suplementos orgánicos (opcional):** agua de coco, extracto de levadura, caseína hidrolizada, homogenizado de plátano, carbón activado, aminoácidos.

Tabla 1. Lista de composiciones del medio Murashige T y Skoog F (1962).

Macronutrientes		
Componentes	Fórmula química	Peso (mg/L)
Nitrato de amonio	NH ₄ NO ₃	1650
Nitrato de potasio	KNO ₃	1900
Cloruro de calcio anhidro	CaCl ₂ · 2H ₂ O	440
Sulfato de magnesio anhidro	MgSO ₄ · 7H ₂ O	370
Fosfato dicálcico de potasio	KH ₂ PO ₄	170
Micronutrientes		
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	6.2
Yoduro de potasio	KI	0.83
Sulfato de manganeso	MnSO ₄ · 4H ₂ O	22.3
Sulfato de zinc	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6
Molibdato de sodio	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25
Sulfato de cobre	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025
Cloruro de cobalto	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025
Hierro/Forma quelada		
Tetraacetato de etilendiamina sódica	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3
Sulfato ferroso heptahidratado	FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8
Vitaminas		
Tiamina HCl		0.1
Ácido nicotínico		0.5
Piridoxina		0.5
Clicina		2
Myoinositol		100

Fuente: (Chimdessa, 2020)

2.2.3.3 Etapas del proceso de cultivo *in vitro*

Murashige (1974), propuso un sistema de etapas para la micropropagación comercial que sigue siendo el marco referencial más utilizado en la biotecnología; el sistema original de tres etapas fue ampliado a cuatro por George et al. (2008).

Etapas 0. Selección del material donante

La elección de la planta madre o planta donante es muy importante para lograr buenos resultados en el cultivo *in vitro*. George et al. (2008) mencionan que es necesario

seleccionar plantas sanas, con buenas características visibles, en crecimiento activo y libres de plagas o enfermedades.

Etapas I. Establecimiento del cultivo aséptico

El establecimiento aséptico comprende la selección del tipo de explante, la desinfección superficial y la siembra inicial en el medio de cultivo; la elección del explante depende del objetivo, ya que hay explantes más seguros de cultivar y mantener la estabilidad genética, como los meristemos apicales y axilares (George et al., 2008b).

Etapas II. Multiplicación

El objetivo de esta etapa es mantener e incrementar el número de brotes para continuar con nuevos ciclos de multiplicación, proceso conocido también como subcultivo. Para ello, se realizan cortes diagonales entre nudo y nudo con la finalidad de aislar las yemas principales, permitiendo que el explante conserve la fidelidad genética de la planta madre durante todo el proceso de micropropagación (Fernandez et al., 2019).

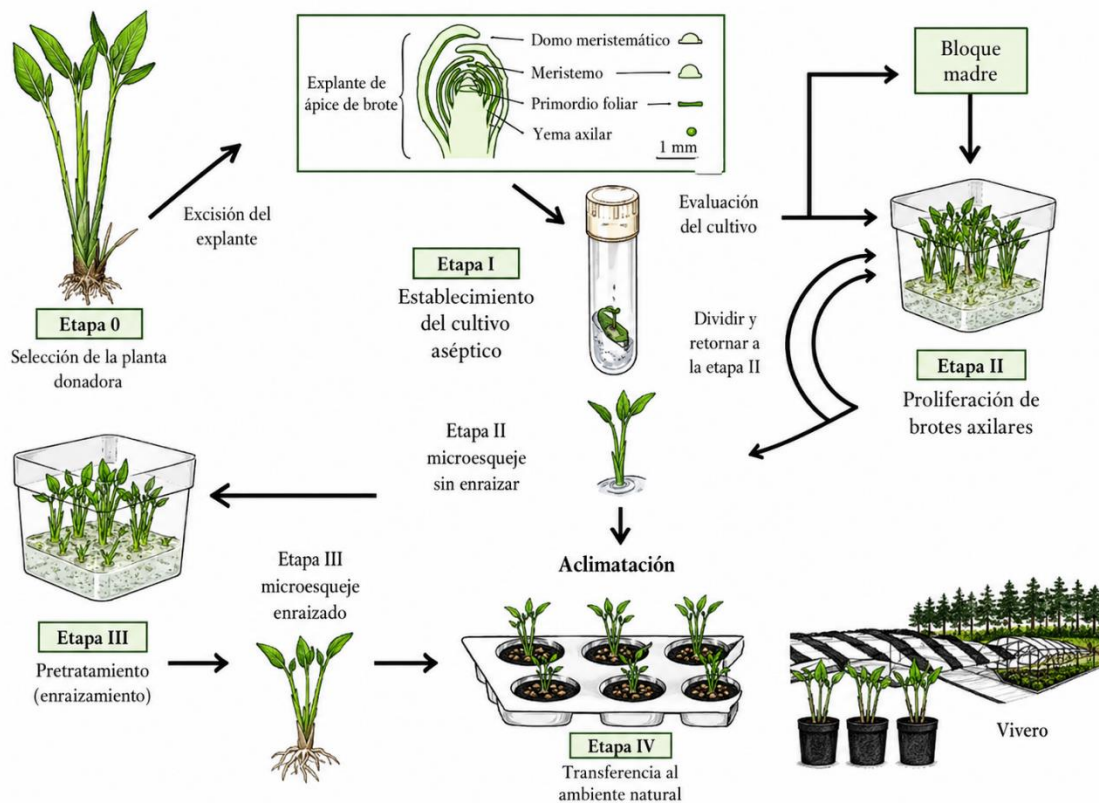
Etapas III. Enraizamiento y elongación

Se busca inducir la formación del sistema radicular y, como consecuencia, favorecer la elongación del explante para obtener brotes más vigorosos y completos (Fernandez et al., 2019). Según George et al. (2008), el establecimiento *in vitro* exitoso no solo incluye el enraizamiento, elongación y adecuado desarrollo del explante, sino también la ausencia total de microorganismos contaminantes que puedan afectar el crecimiento y la viabilidad del cultivo.

Etapas IV. Aclimatación ex vitro

La aclimatación es la fase final del proceso y consiste en adaptar gradualmente las plantas obtenidas *in vitro* a las condiciones del ambiente externo. Durante el cultivo *in vitro*, las plántulas se desarrollan en condiciones muy controladas (humedad relativa, intensidad luminosa, temperatura controlada, pH, nutrientes, etc.); por ello, al ser trasladadas al exterior, las plántulas experimentan un cambio brusco en las condiciones ambientales que incrementa el riesgo de deshidratación, estrés fisiológico y mortalidad; por ende, la aclimatación gradual permite que las plantas desarrollen progresivamente mecanismos de regulación hídrica y fotosintética, favoreciendo su establecimiento, crecimiento y supervivencia en condiciones naturales o de vivero (Pospíšilová et al., 1999).

Figura 4. Diferentes etapas del cultivo de tejidos vegetales (Kane, 2011, p. 183).



2.2.4 Fuente de carbono

Las fuentes de carbono son compuestos que suministran carbono orgánico a los organismos, el cual es esencial para llevar a cabo procesos fundamentales como el crecimiento celular, la síntesis de biomoléculas y la producción de energía metabólica. En los sistemas biológicos, el carbono cumple una función indispensable, ya que participa en la formación de moléculas estructurales como proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos; además, actúa como fuente de energía a través de procesos metabólicos como la glucólisis y el ciclo de Krebs, permitiendo el desarrollo y funcionamiento normal de las células (Madigan et al., 2018).

En los cultivos vegetales *in vitro*, las fuentes de carbono son fundamentales debido a que los tejidos cultivados, especialmente en sus primeras etapas de desarrollo, presentan una capacidad fotosintética reducida; por esta razón, requieren un suministro externo de carbono que les permita crecer, diferenciarse y mantener su actividad metabólica. Generalmente, concentraciones entre 20 y 30 g/L (2 a 3%) resultan adecuadas para la mayoría de los cultivos, ya que favorecen un desarrollo óptimo; sin embargo, cuando estas concentraciones son excesivas, pueden generar dificultad para absorber agua, alteraciones en el crecimiento normal de los explantes e incluso aumentar el riesgo de contaminación dentro del medio de cultivo (George et al., 2008).

2.2.4.1 Sacarosa

La sacarosa es un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y una de fructosa unidas mediante un enlace glucosídico; es el azúcar común presente de forma natural en muchas plantas, como la caña de azúcar y la remolacha, que constituye una de las principales fuentes de transporte de carbohidratos en los vegetales. En cultivo *in vitro*, la sacarosa es la fuente de carbono más utilizada debido a su alta estabilidad, fácil disponibilidad y gran eficiencia para estimular el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales; además, puede hidrolizarse fácilmente en glucosa y fructosa gracias a la acción de enzimas presentes en los propios tejidos de la planta, lo que facilita su aprovechamiento metabólico. Por estas razones, la sacarosa es considerada el azúcar preferido en la mayoría de los medios de cultivo vegetal *in vitro*, ya que proporciona la energía y el carbono necesarios para la división celular, la diferenciación y el desarrollo normal de los explantes (George et al., 2008b).

2.2.4.2 Glucosa

Según Bhojwani (2013), la glucosa es un monosacárido de seis carbonos, conocido como hexosa, que cumple una función esencial como fuente inmediata de energía en las células vegetales; en los cultivos *in vitro*, este azúcar puede ser absorbido y utilizado rápidamente por los tejidos vegetales, participando directamente en procesos metabólicos fundamentales para el crecimiento y desarrollo celular. Los autores señalan que la glucosa interviene activamente en rutas metabólicas centrales como la glucólisis y el ciclo de Krebs, donde se transforma en energía necesaria para la división celular, la formación de nuevos tejidos y la síntesis de biomoléculas estructurales.

2.2.4.3 Fructosa

La fructosa es un monosacárido isómero de la glucosa, muy soluble en agua y se encuentra de manera natural en frutas y miel; estas tienen efectos variables, en algunas especies puede reducir la germinación o tener un crecimiento más lento en comparación con la sacarosa.

La fructosa actúa como una fuente de carbono en los medios de cultivo *in vitro* y puede reemplazar a la sacarosa o mezclarse con otros azúcares, como la glucosa; investigaciones indican que la fructosa promueve el crecimiento y la evolución de las plantas cultivadas *in vitro*, aunque suele presentar un enraizamiento y una tasa de brotes enraizados algo inferior en comparación con la sacarosa (75-89% frente a 99-100%); aunque la fructosa es fácilmente metabolizable, su eficacia como fuente de carbono depende del tipo de tejido vegetal y su sensibilidad al estrés osmótico (Martínez-Hernández et al., 2009).

2.2.4.4 Maltosa

Es un azúcar que se forma a partir de dos moléculas de glucosa unidas mediante un enlace glucosídico alfa (1→4), se encuentra en ciertas frutas, donde representa el 15% del total de los azúcares, y su nivel de dulzura es un 50% en relación con la sacarosa. La maltosa ha mostrado efectos positivos en la formación de protocormos, alto porcentaje de germinación y en el desarrollo inicial de algunas orquídeas debido a su lenta degradación (Bozdemir et al., 2018).

George et al. (2008), señalan que la maltosa puede ser una alternativa interesante en la germinación de semillas con metabolismo de almidón activo en el endospermo, aunque en las orquídeas que carecen de endospermo; por lo cual, su ventaja sobre la sacarosa no está claramente establecida.

2.2.5 Marco legal

El tráfico de flora silvestre ha sido progresivamente regulado por el Estado debido a su impacto negativo en la conservación de muchas especies; esta actividad ha contribuido a que diversas plantas se encuentren actualmente en categorías de amenaza como En Peligro Crítico, En Peligro y Vulnerable, situación que también afecta a las orquídeas. En este grupo, algunas especies están incluidas en el Apéndice I de la CITES, el cual agrupa a aquellas especies en mayor riesgo de extinción, cuyo comercio internacional está prácticamente prohibido, permitiéndose solo en casos excepcionales como investigación científica; por otro lado, la mayoría de las orquídeas se encuentra en el Apéndice II, donde se incluyen especies que no están necesariamente en peligro inmediato, pero cuyo comercio debe ser regulado para evitar que lleguen a estarlo (MINAM, 2018). Por lo cual, la realización de estudios que impliquen la colecta o manipulación de estas especies requiere contar con los permisos correspondientes, garantizando así que las actividades se desarrollen de manera legal y contribuyan a su conservación.

En el Perú, la extracción de muestras de orquídeas con fines de investigación está regulada por normas que buscan proteger la biodiversidad y asegurar su uso sostenible; la Ley N.º 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, establece que la flora silvestre es patrimonio de la Nación, por lo que cualquier actividad de colecta requiere autorización del Estado (Congreso de la República del Perú, 2011). Esto implica que incluso los estudios científicos deben cumplir con procedimientos formales que garanticen la conservación de las especies y de los ecosistemas donde habitan.

Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR), es la entidad encargada de regular y supervisar la extracción de recursos forestales y de flora silvestre; para realizar colectas de orquídeas, es necesario tramitar permisos que incluyan información

detallada sobre los objetivos de la investigación, la ubicación, el número de muestras y las medidas para minimizar impactos ambientales (SERFOR, 2015). Además, se promueve el uso de alternativas como el cultivo *in vitro*, ya que permite reducir la presión sobre las poblaciones naturales.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

El trabajo de investigación abarcó dos espacios diferentes:

a. Muestreo: La muestra se colectó en el distrito de Quinua – Ayacucho.

b. Trabajo en laboratorio: Realizado en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.1.1 Ubicación política

a. Muestreo

Departamento : Ayacucho
Provincia : Huamanga
Distrito : Quinua
Comunidad : Lurinzayacc y Ananzayacc

b. Trabajo en laboratorio

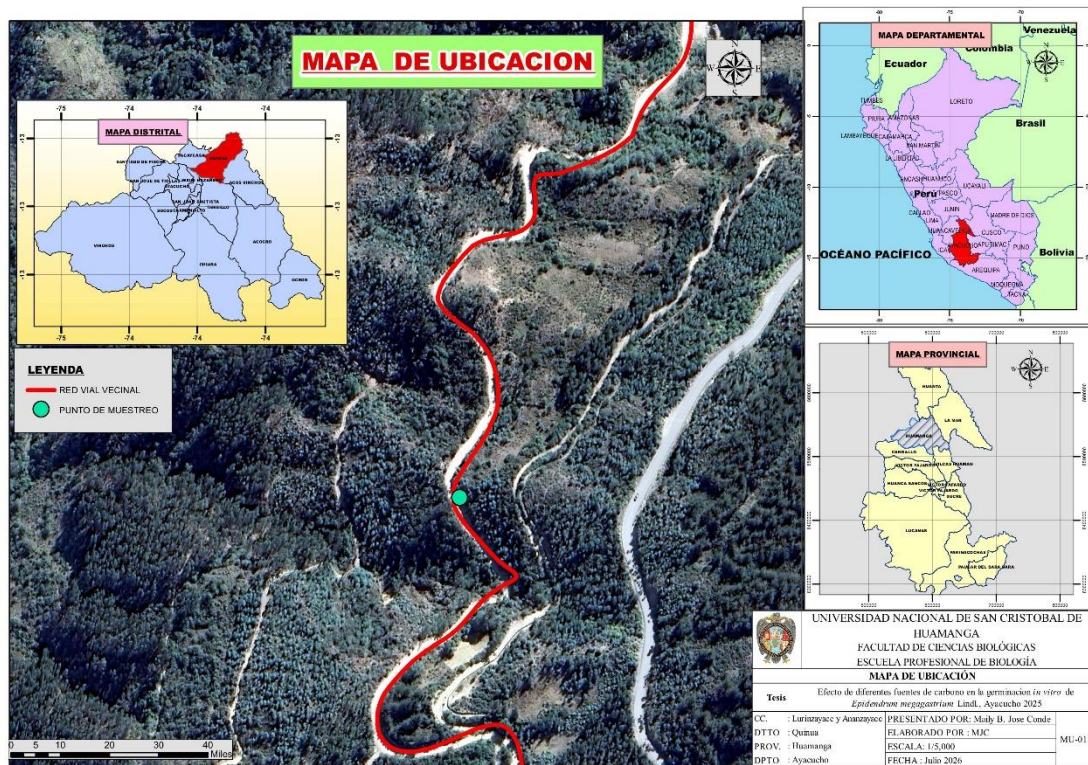
Departamento : Ayacucho
Provincia : Huamanga
Distrito : Ayacucho

3.1.2 Ubicación geográfica

Tabla 2. Ubicación geográfica de la Comunidad Campesina de Lurinzayacc y Ananzayacc del distrito de Quinua; y Laboratorio de Biotecnología.

Coordenadas WGS 1984 – UTM, zona 18L				
Fase	Ubicación	X	Y	Altitud (m s.n.m)
Campo	Distrito de Quinua	594120	8560600	3578.5
Laboratorio	Laboratorio de Biotecnología	584444	8546630	2843.1

Figura 5. Mapa de ubicación geográfica del distrito de Quinua.



3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

Semillas de *Epidendrum megagastrium* Lindl. del distrito de Quinua.

3.2.2 Muestra

Semillas procedentes de una cápsula de *Epidendrum megagastrium* Lindl.

3.3 Tipo de investigación

Básica – experimental.

3.4 Problema

3.4.1 Formulación del problema

¿Cómo influyen las diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl?, Ayacucho 2025?.

3.5 Hipótesis

Las diferentes fuentes de carbono (sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa) tienen diferentes influencias en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025.

3.6 Metodología

3.6.1 Recolección de la muestra

Se empleó una sola cápsula madura de *Epidendrum megagastrium* Lindl., recolectada en el distrito de Quinua, Ayacucho, directamente de su hábitat natural y antes de su

dehiscencia; la selección de una sola cápsula estuvo determinada por la escasa disponibilidad de cápsulas maduras y los diferentes tiempos de maduración observadas durante el periodo de recolección. La cantidad de semillas obtenida fue suficiente para establecer los tratamientos y las cinco repeticiones del experimento, permitiendo realizar las evaluaciones de germinación bajo condiciones experimentales estandarizadas.

3.6.1.1 Criterios para la colecta del material biológico

- Seleccionar plantas madre sanas, desarrolladas y libres de signos visibles de enfermedades o plagas.
- Seleccionar la cápsula debe estar madura, en la cual presenta hinchamiento en las suturas y coloración ligeramente amarillenta en la parte apical.

3.6.1.2 Colecta del material biológico

Antes de realizar la colecta, se hizo un recorrido por distintos sectores del distrito de Quinua, poniendo especial atención en la carretera que conduce al desvío hacia la localidad de Huamanguilla, para ubicar la planta de interés. Se registraron sus coordenadas geográficas para poder identificarlas fácilmente y regresar luego a realizar la colecta de manera ordenada y con los respectivos permisos para la extracción de flora silvestre dada por la SERFOR.

La colecta se llevó a cabo en el borde de la carretera, en el desvío hacia la localidad de Huamanguilla, distrito de Quinua, en una zona donde las plantas se desarrollan de forma natural.

- En una primera etapa, se recolectaron únicamente las cápsulas de *E. megagastrium* que cumplieran con los criterios de madurez y buen estado fitosanitario, seleccionando principalmente aquellas cápsulas cerradas para garantizar la viabilidad de las semillas. La extracción se realizó de manera cuidadosa, evitando causar daños a la planta madre y limitando la cantidad de material recolectado, con el fin de no afectar la regeneración natural de la población.
- En la segunda etapa se realizó la colecta de un ejemplar completo de la planta con fines de identificación taxonómica; el material fue fotografiado utilizando una cámara Nikon D3500 y posteriormente se procedió a su disección para el análisis detallado de sus estructuras morfológicas. Las partes de menor tamaño fueron observadas mediante un estereoscopio, registrándose imágenes complementarias con un teléfono móvil (Redmi Note 10S); estas estructuras fueron fotografiadas minuciosamente con el propósito de elaborar una lámina tipo Lankester, permitiendo documentar de forma precisa las características diagnósticas de la especie; asimismo, se registraron datos de campo como coordenadas geográficas y altitud, empleando las aplicaciones Google Earth Pro y Timestamp.

3.7 Preparación del medio de cultivo

- Para la preparación del medio de cultivo, se utilizó una balanza analítica para pesar los componentes y cuatro frascos de vidrio, uno para cada tratamiento; en cada frasco se preparó el medio basal de Murashige y Skoog (MS), el cual contiene macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y otros componentes esenciales para el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales (Tabla 1). A cada medio de cultivo se le adicionó una fuente de carbono al 3% diferente como tratamiento experimental (sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa).
- Posteriormente, los componentes fueron disueltos en agua destilada hasta completar el volumen requerido, asegurando una adecuada homogenización de la solución.
- Una vez preparado el medio de cultivo, se procedió a medir y ajustar el pH a 5,7 mediante la adición de NaOH 0.1N, según fuera necesario. Este valor de pH se estableció por encontrarse dentro del rango adecuado para el cultivo *in vitro*.
- Luego, se incorporó agar agar al 0.7 % como agente gelificante. La mezcla fue calentada en un horno microondas para lograr la completa disolución del agar y obtener un medio homogéneo y libre de grumos.
- Finalmente, el medio preparado fue sometido a un proceso de esterilización en autoclave a 121 °C durante 20 minutos, con el objetivo de eliminar cualquier tipo de microorganismo contaminante.

3.8 Desinfección de la cápsula de *Epidendrum megagastrium* Lindl.

- En una cámara de flujo laminar previamente desinfectada, se colocaron todos los materiales e instrumentos necesarios para el procedimiento, garantizando condiciones de asepsia durante todo el proceso.
- La desinfección del material vegetal se realizó siguiendo la técnica descrita por Rodríguez (2013). Para ello, la cápsula de *E. megagastrium* fue sometida inicialmente a una limpieza preliminar, sumergiéndola en una solución de agua corriente con jabón neutro y agitándola suavemente, para luego enjuagarla con abundante agua.
- Posteriormente, la cápsula se colocó en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%, manteniéndola en agitación constante durante 10 minutos, con el objetivo de eliminar microorganismos presentes en su superficie.
- A continuación, se realizaron tres enjuagues consecutivos con agua destilada estéril, con la finalidad de eliminar completamente los residuos del agente desinfectante.
- Finalmente, la cápsula fue sumergida en etanol al 70% por 30 segundos, fue retirada con una pinza estéril y flameada cuidadosamente hasta la evaporación total del

alcohol. Una vez finalizado este proceso, se colocó en una placa de Petri estéril, quedando lista para su manipulación y siembra en el medio de cultivo.

3.9 Siembra de semillas

- En condiciones de asepsia, dentro de una cámara de flujo laminar y con el mechero encendido, el medio de cultivo aún caliente fue vertido cuidadosamente en placas de Petri correspondientes a cada tratamiento, dejándose reposar hasta su completa solidificación.
- Posteriormente, se realizaron cortes transversales en la cápsula de *E. megagastrum* utilizando un bisturí estéril, con la finalidad de liberar las semillas.
- Para la siembra, las semillas fueron distribuidas de manera uniforme sobre la superficie del medio de cultivo. Para ello, se cargaron aproximadamente 0.5 cm³ de semillas en una jeringa de 5 mL, las cuales se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía 20 mL de agua destilada. El tubo fue agitado suavemente para lograr una suspensión homogénea de las semillas.
- A continuación, con ayuda de una tuberculina, se extrajo 1 mL de la suspensión y se depositó en cada placa de Petri, realizando movimientos suaves y utilizando el bisel para asegurar una distribución uniforme sobre el medio de cultivo.
- Finalmente, las placas sembradas fueron rotuladas y selladas con cinta parafilm; luego fueron trasladadas a la cámara de incubación, donde se mantuvieron a una temperatura de 20 ± 1 °C para su desarrollo.

3.10 Evaluación y recolección de datos

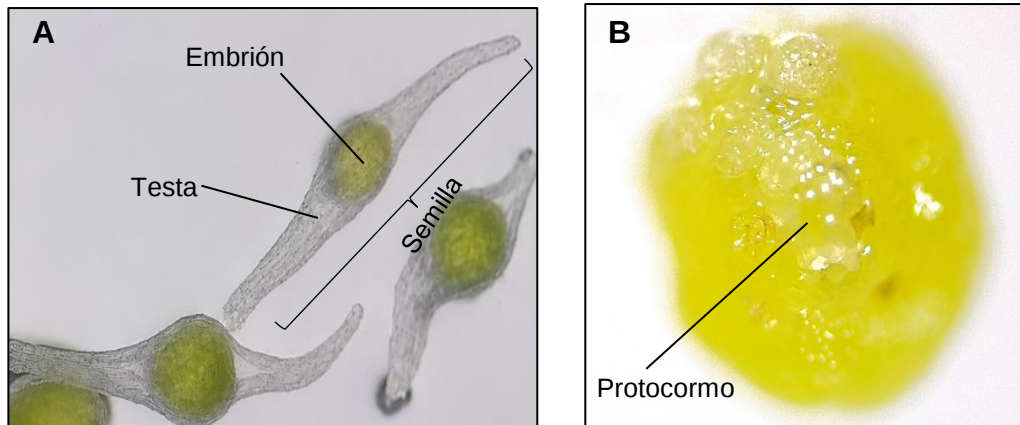
3.10.1 Evaluación

Frecuencia de observación: cada 7 días durante un período de 15 semanas.

Variables a medir:

- **Germinación (%):** se evaluó a partir de la proporción de semillas germinadas respecto al total de semillas presentes en un área de 1 cm² delimitada en cada placa de Petri, la utilización de un área de evaluación constante permitió estandarizar el conteo y realizar comparaciones uniformes entre los tratamientos; se emplearon cinco repeticiones por tratamiento. Se consideró como semilla germinada aquella que presentó desarrollo y aumento de tamaño del embrión, evidenciando el inicio de la formación del protocormo (Figura 6).

Figura 6. Semillas sin germinar (A) y semilla germinada (B) de *Epidendrum megagastrium* Lindl. (Fotografía de elaboración propia).



- **Etapas de germinación (%):** se identificaron tres etapas durante del proceso de germinación; semillas sin embrión (etapa 0), el hinchamiento de la semilla e hidratación o imbibición (etapa I) y formación de protocormo (etapa II), de acuerdo con Arditti & Ghani (2000). Las características morfológicas correspondientes a cada etapa se muestran en el Anexo 11.

Instrumentos: se utilizó un estereoscopio para la observación detallada y hojas de registro.

3.10.2 Recolección de datos

- Durante la recolección de datos del porcentaje de germinación, se realizó el registro a lo largo de 15 semanas. El porcentaje de germinación se determinó mediante la relación entre el número de semillas germinadas y el total de semillas sembradas en cada tratamiento, expresado en porcentaje (Apolo, 2021).
- Para el porcentaje correspondiente a las etapas de germinación, las evaluaciones se realizaron cada 7 días durante todo el periodo experimental, lo que permitió observar la progresión de las semillas a través de la etapa 0 (semillas sin embrión), etapa I (hinchamiento de semilla e hidratación) y etapa II (formación de protocormo). El seguimiento se mantuvo hasta alcanzar un porcentaje considerable de formación de protocormos, tomando como referencia lo señalado por Arditti & Ghani (2000) y Pierik (1990), quienes indican que valores superiores al 60% reflejan una germinación favorable en condiciones de cultivo *in vitro*.

3.11 Análisis estadístico

A partir de los datos obtenidos, se elaboraron tablas y figuras estadísticas para facilitar su interpretación; la información fue organizada inicialmente en una base de datos en Microsoft Excel 2019 y posteriormente analizada con el software InfoStat (versión estudiante).

Antes, se verificó el cumplimiento del supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk empleando el programa Jamovi 2.7.24; al no cumplirse este supuesto, se optó por aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis utilizando InfoStat, trabajando con un nivel de confianza del 95%.

Por otro lado, para las variables que cumplieron con el supuesto de normalidad, se realizó un análisis de varianza (ANVA), con un nivel de confianza del 95%; asimismo, en las comparaciones múltiples de promedios se aplicó la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Estos análisis fueron desarrollados utilizando el lenguaje de programación R Core Team (2021).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación *in vitro* de *E. megagastrium* presentó diferencias en respuesta a las distintas fuentes de carbono evaluadas; el análisis mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). El tratamiento suplementado con maltosa registró la mayor respuesta germinativa, con una mediana del 70%, ubicándose en el grupo estadístico B; los tratamientos con sacarosa y glucosa presentaron menores medianas de germinación, con valores de 8% y 11%, respectivamente, ambos pertenecientes al grupo estadístico A. Por su parte, la fructosa alcanzó una mediana de germinación del 19% y se ubicó en el grupo estadístico AB, lo que indica un comportamiento intermedio, sin diferir significativamente ni del tratamiento con maltosa ni de los tratamientos con sacarosa y glucosa.

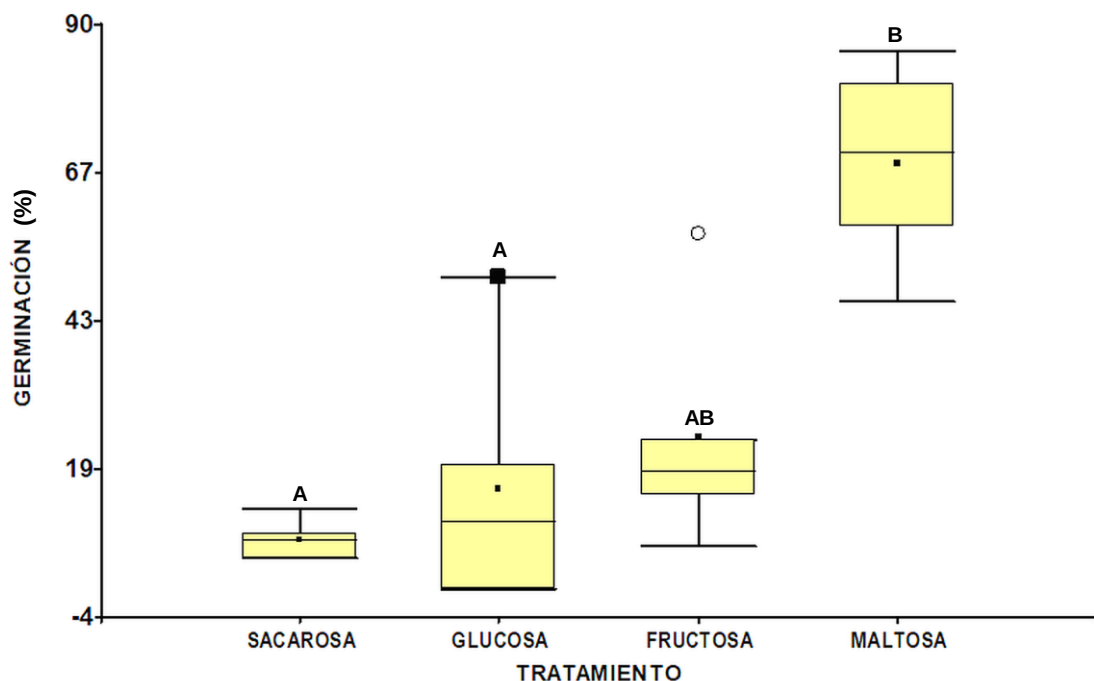


Figura 7. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la germinación *in vitro* de *E. megagastrium* Lindl. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$).

En la evaluación del porcentaje de semillas correspondientes a la Etapa 0, el análisis estadístico no evidenció diferencias significativas entre las diferentes fuentes de carbono evaluadas ($p > 0.05$), ubicándose todas ellas dentro del mismo grupo estadístico (grupo A). Asimismo, se observó la presencia de semillas sin desarrollo embrionario en todos los tratamientos, registrándose medias de 18% en sacarosa, 13% en maltosa, 10% en glucosa y 13% en fructosa.

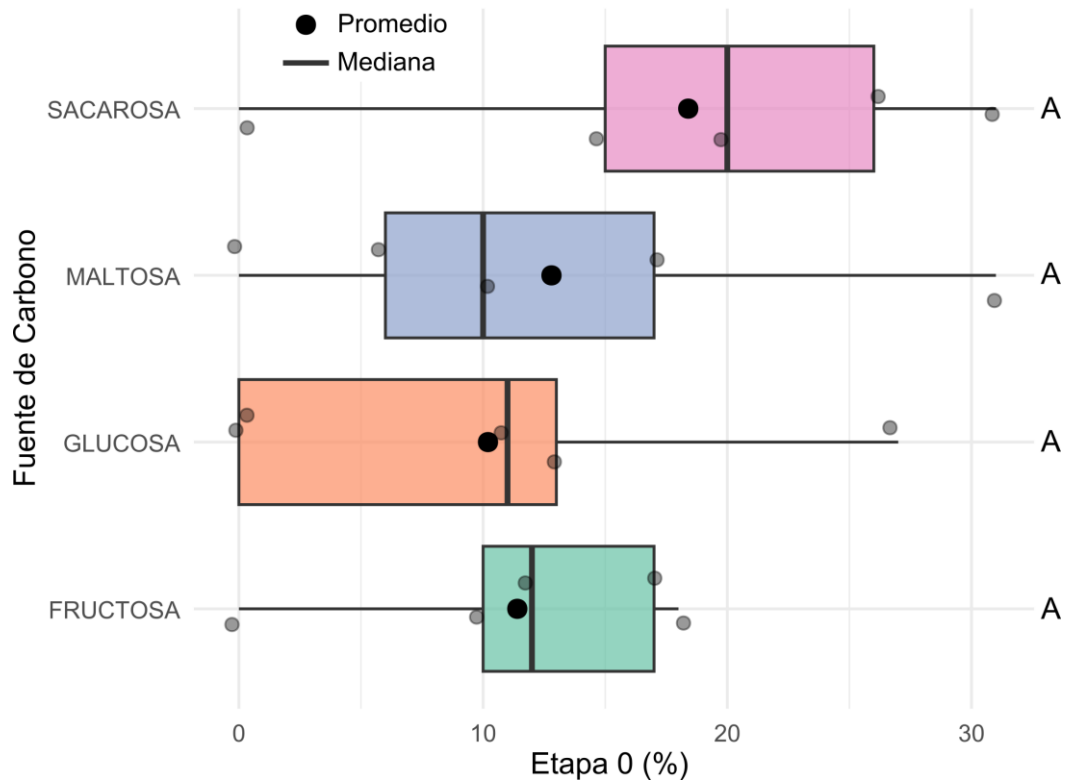


Figura 8. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre las semillas sin embrión (etapa 0) en el cultivo *in vitro* de *E. megagastrium* Lindl., evaluado a las 15 semanas. Letras iguales no difieren significativamente (Tukey $p > 0.05$).

Respecto a la etapa I durante la germinación *in vitro* de *E. megagastrium* evaluada después de cuatro semanas de cultivo, los tratamientos suplementados con diferentes fuentes de carbono no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). El análisis estadístico indicó que todos los tratamientos pertenecieron al mismo grupo A; asimismo, se observaron porcentajes elevados de imbibición, con valores promedio que oscilan entre 81.4% (sacarosa), 90.3% (glucosa), 88.7% (fructosa) y 87.3% (maltosa).

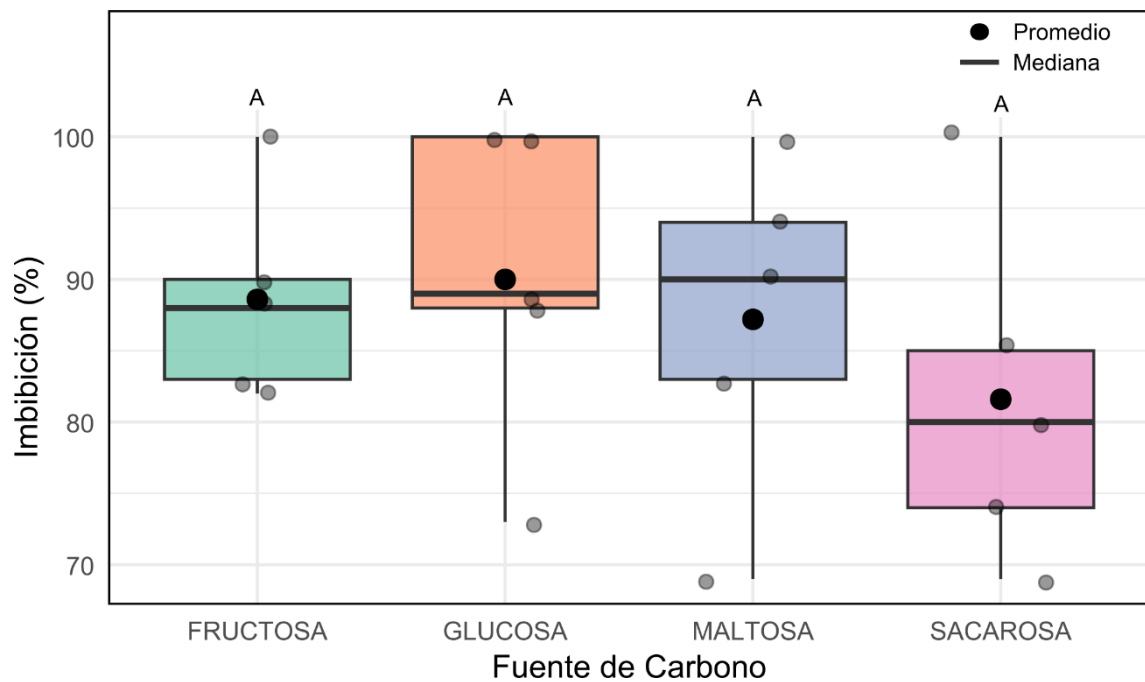


Figura 9. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la imbibición (etapa I) en el cultivo *in vitro* de *E. megagastrium* Lindl., evaluado a las 4 semanas. Letras iguales no difieren significativamente (Tukey $p > 0.05$).

En la etapa II de la germinación *in vitro* de *E. megagastrium*, correspondiente a la formación de protocormos evaluada durante 15 semanas, la fuente de carbono utilizada en el medio de cultivo influyó significativamente en el porcentaje de protocormos formados ($p < 0.05$). El análisis de comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) mostró que la maltosa presentó el mayor porcentaje de formación de protocormos con una mediana de 70% (grupo A), diferenciándose significativamente de la fructosa (19%), glucosa (11%) y sacarosa (8%), las cuales no mostraron diferencias significativas entre sí al pertenecer al mismo grupo estadístico (B).

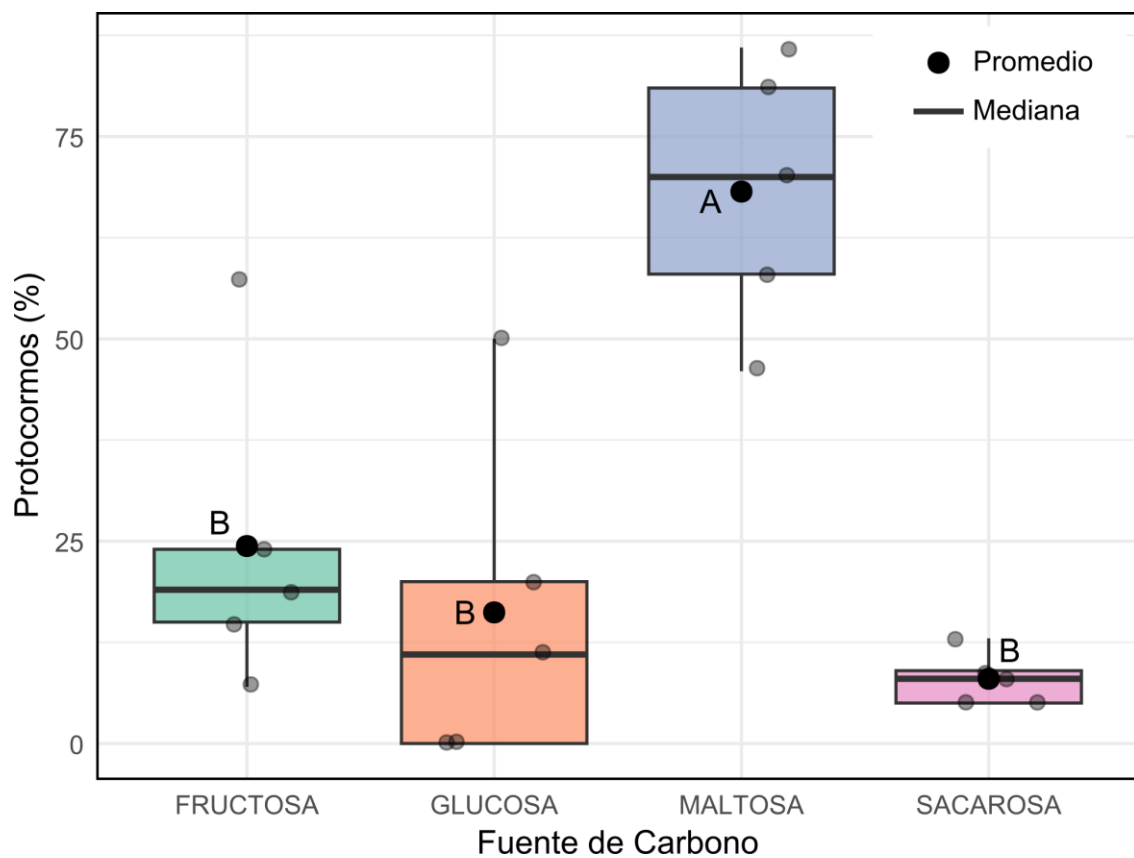


Figura 10. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la formación de protocormos (etapa II) en el cultivo *in vitro* de *E. megagastrium* Lindl., evaluado a las 15 semanas. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $p < 0.05$).

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbono sobre la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl.; los resultados demostraron que la fuente de carbono influyó significativamente en el proceso germinativo (Figura 7), siendo la maltosa la que produjo mayor porcentaje de germinación (70%), seguida por la fructosa (19%), glucosa (11%) y sacarosa (8%), esta última con el desempeño más bajo. La evidencia observada permite aceptar que la respuesta germinativa depende, al menos en parte, de la fuente de carbono incorporada al medio de cultivo, lo cual resulta fisiológicamente relacionado, debido a que las semillas de las orquídeas son extremadamente pequeñas, carecen de endospermo y poseen un embrión poco desarrollado, por lo que disponen de reservas limitadas para sostener el crecimiento inicial; ya que, en condiciones naturales, el embrión depende de la asociación con hongos micorrícicos para obtener carbono y otros nutrientes, mientras que en la germinación asimbiótica esta función es reemplazada por el medio de cultivo, el cual debe aportar una fuente de carbono adecuada para favorecer la división celular y la formación del protocormo (Yeung, 2017).

El mayor porcentaje de germinación de las semillas de *E. megagastrium* observado en este estudio al emplear maltosa como fuente de carbono podría estar relacionado con la forma en que este disacárido es aprovechado durante las primeras etapas de germinación, proporcionando un suministro gradual, mantener la presión osmótica del entorno y, en consecuencia, disminuyendo la inhibición osmótica sobre el desarrollo del protocormo, un factor especialmente crítico dado que las células embrionarias de las orquídeas son muy sensibles a los desequilibrios osmóticos durante la imbibición y la formación temprana del protocormo (George et al., 2008). No obstante, dado que en la presente investigación no se evaluó el metabolismo de los azúcares ni la actividad enzimática, no es posible afirmar el mecanismo responsable de este comportamiento y los resultados deben interpretarse como evidencia de que la maltosa constituyó la fuente de carbono más eficiente bajo las condiciones experimentales evaluadas, mientras que la explicación fisiológica requiere investigaciones complementarias.

Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Bozdemir et al. (2018), quienes encontraron que la maltosa promovió la mayor germinación *in vitro* en *O. sancta* cuando fue utilizada a 40g/L; los autores señalaron que tanto el tipo como la concentración del carbohidrato influyen en las diferentes fases de desarrollo de las orquídeas, demostrando que la respuesta no es uniforme entre las distintas fuentes de carbono. Aunque *O. sancta* pertenece a un género diferente de *Epidendrum*, ambos estudios muestran que la maltosa puede constituir una alternativa eficiente para

favorecer la germinación asimbiótica de determinadas especies de la familia Orchidaceae.

Asimismo, los resultados guardan relación con lo descrito por Mamani et al. (2022) en *E. secundum*, quienes destacaron que las características químicas del medio de cultivo son determinantes para el establecimiento y desarrollo de los protocormos; si bien dicho estudio no comparó diferentes fuentes de carbono, demostró que modificaciones en la composición del medio pueden alterar significativamente la respuesta germinativa, lo cual respalda la importancia de optimizar cada componente del medio de cultivo para cada especie del género *Epidendrum*.

En conjunto, los estudios revisados indican que no existe una fuente de carbono universalmente superior para todas las orquídeas y dependen de factores como la especie, el estado fisiológico de las semillas, composición del medio de cultivo y las condiciones de incubación. Por ello, los protocolos desarrollados para un determinado género o especie no deben extrapolarse directamente a otras orquídeas sin una evaluación experimental previa (Yeung, 2017). Del mismo modo, Gonzales-Arteaga et al. (2024), señalaron que la formulación del medio de cultivo condicionó la germinación y la producción de protocormos en *E. catillus*, ratificando que la respuesta al cultivo *in vitro* depende de la interacción entre la especie y las condiciones nutricionales del medio. En conjunto, estos estudios respaldan que la optimización de la fuente de carbono constituye un aspecto fundamental para el desarrollo de protocolos específicos de propagación en especies de *Epidendrum*.

A diferencia de la maltosa, la fructosa presentó una respuesta intermedia, sin diferencias estadísticas con los demás tratamientos; este comportamiento indica que la fructosa fue capaz de sostener el proceso germinativo, aunque con una eficiencia inferior a la maltosa. Una posible explicación es que las semillas de *E. megagastrium* poseen requerimientos fisiológicos distintos a los descritos para otras especies de orquídeas; sin embargo, esta hipótesis requiere estudios adicionales que evalúen directamente el metabolismo de este carbohidrato.

La sacarosa y glucosa mostraron menores porcentajes de germinación; (8.00% y 16.20%, respectivamente), conformando ambas al grupo estadístico A, sin diferencias significativas entre sí; este resultado es contradictorio, ya que la sacarosa es el carbohidrato más utilizado como referencia en la germinación *in vitro* de orquídeas en general, incluyendo géneros tropicales afines como *Cattleya*, *Dendrobium* y *Phalaenopsis* (Arditti & Ernst, 1993); no obstante, los estudios han demostrado que la respuesta a los carbohidratos varía considerablemente según la especie vegetal y el estudio fisiológico del explante, lo que podría explicar la menor eficiencia como se

observó en los resultados. Asimismo, Delgado (2019) visualizó porcentajes de germinación bajos en *E. secundum* y *E. ibaguense* en cultivo *in vitro* bajo condiciones estándar, señalando que la respuesta germinativa en el género *Epidendrum* es sensible a múltiples factores del medio, no únicamente al tipo de carbohidrato.

La presencia de los valores atípicos en el diagrama de cajas, especialmente en el tratamiento de fructosa, puede atribuirse tanto a la variabilidad biológica de las semillas como a microvariaciones en las condiciones del cultivo *in vitro*, tales como diferencias en la composición del medio, distribución de luz o condiciones microambientales dentro de los frascos, según George et al. (2008); este tipo de variabilidad es común en cultivos *in vitro* y debe ser considerada como parte del comportamiento natural del material vegetal.

En la etapa correspondiente a las semillas sin embrión (Figura 8), no se observaron diferencias significativas entre las fuentes de carbono evaluadas; este resultado muestra que la proporción de semillas sin desarrollo embrionario fue independiente del carbohidrato incorporado al medio de cultivo y estuvo asociada principalmente a la calidad fisiológica del material vegetal. En las orquídeas es frecuente encontrar semillas vacías o con embriones poco desarrollados debido a que producen miles de semillas por cápsula, pero no todas completan adecuadamente el proceso de embriogénesis; la viabilidad de las semillas puede verse influenciada por factores como el éxito de la polinización, el desarrollo del embrión, el estado de madurez de la cápsula y las condiciones ambientales durante la formación del fruto (Arditti & Ghani, 2000; Yeung, 2017). En consecuencia, la presencia de semillas no viables observada en este estudio constituye una característica común en la familia Orchidaceae y no necesariamente refleja deficiencias en el protocolo de cultivo *in vitro*.

Asimismo, la ausencia de diferencias estadísticas entre tratamientos en esta etapa era previsible, debido a que la fuente de carbono suministrada en el medio de cultivo no tiene la capacidad de modificar la viabilidad inicial de las semillas, debido a que el carbohidrato actúa únicamente después de que el embrión viable inicia su metabolismo y comienza el proceso germinativo. Por ello, las diferencias observadas posteriormente entre tratamientos pueden atribuirse al efecto de la fuente de carbono sobre el desarrollo de los embriones viables y no sobre la proporción inicial de semillas con capacidad de germinar.

Mientras que en los resultados de la Figura 9 muestran que todos los tratamientos indujeron porcentajes de imbibición relativamente elevados y sin diferencias estadísticamente significativas entre sí (grupo A) durante las primeras 4 semanas, con medias que oscilaron entre 81.4% (sacarosa), 90.3% (glucosa), 88.7% (fructosa) y

87.3% (maltosa). La imbibición representa la primera fase fisiológica de la germinación y comprende la hidratación del embrión, el incremento del volumen celular y la reactivación gradual de la actividad metabólica, procesos indispensables para el inicio de las divisiones celulares (Bewley et al., 2013). En las semillas de orquídeas, debido a la ausencia de endospermo y al reducido tamaño del embrión, esta fase depende principalmente de las propiedades físicas del medio y de la disponibilidad de agua, más que del tipo de carbohidrato presente.

Resultados semejantes fueron descritos por Mamani et al. (2022) para *E. secundum*, quienes observaron que la tasa de imbibición de los embriones fue similar entre los distintos medios evaluados durante las primeras semanas de cultivo, siendo las diferencias entre tratamientos más notorias en etapas posteriores, como la formación de protocormos y el desarrollo vegetativo. Esta dinámica indica que la capacidad de la fuente de carbono para sostener el desarrollo del embrión más allá de la imbibición es el factor diferenciador real entre carbohidratos, más que su influencia sobre la entrada inicial de agua.

En la etapa de formación de protocormos (Figura 10), se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$), destacando la maltosa como el tratamiento que produjo el mayor porcentaje de semillas que alcanzaron esta etapa; el protocormo constituye una estructura característica de las orquídeas y representa la transición entre el embrión y la plántula, siendo el momento en que inicia la diferenciación de tejidos, la formación de rizoides y, posteriormente, el desarrollo de los primeros primordios foliares; debido a la intensa actividad metabólica que ocurre durante esta etapa, el embrión requiere un suministro continuo de carbono y energía para sostener la división y diferenciación celular (Yeung, 2017). En el presente estudio, la maltosa promovió una mayor formación de protocormos, seguida de la fructosa, glucosa y finalmente sacarosa; lo que se podría decir que la fuente de carbono desempeña un papel determinante en el desarrollo germinativo de *E. megagastrium*.

Este comportamiento coincide parcialmente con lo reportado por Bozdemir et al. (2018) en *O. sancta*, donde la maltosa fue la fuente de carbono más eficiente durante la germinación inicial; sin embargo, la sacarosa produjo una mayor formación de protocormos cuando se utilizó en concentraciones elevadas. Por otro lado, en *E. megagastrium*, la maltosa mantuvo su efecto favorable tanto en la germinación como en la formación de protocormos; la posible explicación es que este disacárido se hidroliza más lentamente que la sacarosa, proporcionando un suministro más gradual de glucosa para el metabolismo celular, donde esta liberación progresiva podría contribuir a mantener un equilibrio osmótico más estable en el medio de cultivo y así evitar

fluctuaciones bruscas en la disponibilidad de carbono, favoreciendo la respiración celular, biosíntesis de nuevos tejidos y la diferenciación del protocormo (Bozdemir et al., 2018; George et al., 2008). No obstante, diversos estudios han demostrado que la respuesta a las fuentes de carbono es específica para cada especie de orquídea; mientras que en algunas especies la sacarosa constituye la fuente más eficiente para la germinación y el crecimiento inicial, en otras especies la maltosa o incluso otros carbohidratos pueden generar mejores respuestas fisiológicas (Guaman et al., 2024). Los resultados obtenidos en *E. megagastrium* corroboran este comportamiento y evidencian que no es recomendable extrapolar protocolos desarrollados para otras especies sin realizar previamente evaluaciones experimentales y, a la vez, esta variabilidad refleja las diferencias fisiológicas existentes entre especies de Orchidaceae, resaltando la necesidad de desarrollar protocolos de micropropagación adaptados a cada taxón.

En el caso particular de *E. megagastrium*, especie endémica de los bosques de montaña de Ecuador y Perú que habita entre 2900 y 3700 m s.n.m. (Hágsater & Jiménez, 2019); una posible explicación es que las características fisiológicas de *E. megagastrium*, las condiciones ecológicas extremas de su hábitat natural, podrían haber seleccionado una fisiología embrionaria adaptada a fuentes de carbono de asimilación más lenta y controlada, como la maltosa, en comparación con los monosacáridos de absorción rápida o la sacarosa. Esta hipótesis es concordante con el principio general establecido en la literatura de cultivo *in vitro* de que las condiciones del medio deben replicar, en la medida de lo posible, las condiciones del hábitat natural de la especie (Mamani et al., 2022); sin embargo, se requieren estudios fisiológicos y bioquímicos que la confirmen. Desde el punto de vista de la conservación, los resultados obtenidos tienen implicancias prácticas importantes, porque la identificación de la maltosa como la fuente de carbono más eficiente para la germinación *in vitro* de *E. megagastrium* aporta una base sólida para el desarrollo de protocolos orientados a su propagación masiva y conservación *ex situ*; esto cobra especial relevancia si se considera que esta especie enfrenta presiones significativas debido a la pérdida y degradación de los bosques nublados andinos (León et al., 2006).

Asimismo, los protocolos desarrollados mediante cultivo *in vitro* pueden contribuir al establecimiento de bancos de germoplasma, programas de reintroducción y proyectos de restauración ecológica, especialmente cuando se trata de especies con distribución restringida o interés para la conservación. Arditti & Ghani (2000), señalan que la germinación asimbiótica ha representado uno de los principales avances en la conservación de Orchidaceae, ya que permite superar las limitaciones impuestas por la

dependencia de hongos micorrícicos durante las primeras etapas del desarrollo. En consecuencia, disponer de un protocolo eficiente para la germinación de *E. megagastrium* constituye una herramienta valiosa para futuras investigaciones relacionadas con su propagación masiva, caracterización fisiológica y conservación. Finalmente, la información generada en este estudio amplía el conocimiento disponible sobre la biología reproductiva y la propagación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium*, una especie para la cual existe escasa información científica; aunque diversos trabajos han evaluado la germinación de otras especies del género, como *E. secundum*, *E. catillus* y *E. dichotomum*, aún son limitados los estudios dirigidos a optimizar protocolos específicos para *E. megagastrium*. En este sentido, los resultados obtenidos constituyen una base para futuras investigaciones orientadas a evaluar diferentes concentraciones de maltosa, combinaciones de fuentes de carbono, reguladores de crecimiento vegetal y otros factores que puedan incrementar la eficiencia de la propagación *in vitro* y contribuir a la conservación de esta especie.

V. CONCLUSIONES

- La fuente de carbono utilizada en el medio de cultivo influyó significativamente ($p < 0,05$) en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl, entre las distintas fuentes de carbono evaluadas, la maltosa presentó la mejor respuesta, alcanzando una mediana de germinación de 70%, mientras que la fructosa, glucosa y sacarosa mostraron porcentajes considerablemente menores (19%, 11% y 8%, respectivamente); estos resultados evidencian que la selección de la fuente de carbono es un factor clave para lograr una germinación eficiente en el cultivo *in vitro* de esta especie.
- Durante las diferentes etapas de germinación *in vitro* se evidenció que no todas las semillas presentaban embrión, observándose porcentajes de semillas sin embrión en todos los tratamientos; asimismo, las semillas pasaron progresivamente desde la etapa I, caracterizada por el hinchamiento e hidratación del embrión, hacia la etapa II correspondiente a la formación de protocormos. En la etapa de imbibición, todas las fuentes de carbono evaluadas (fructosa, glucosa, maltosa y sacarosa) produjeron porcentajes elevados y estadísticamente similares, evidenciando que este proceso depende principalmente de fenómenos físico-osmóticos; sin embargo, diferencias significativas surgieron durante la formación de protocormos, donde la maltosa favoreció la transición más rápida y eficiente hasta la etapa II, alcanzando el mayor porcentaje de protocormos (mediana = 70.00%; media = 68.20%).

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios que permitan establecer las concentraciones óptimas de cada fuente de carbono (sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa) para comparar con los resultados obtenidos en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl.
- Continuar investigaciones sobre *E. megagastrium* relacionadas con aspectos fisiológicos, bioquímicos y de cultivo *in vitro* que permitan optimizar su propagación masiva, contribuir a programas de conservación y aprovechamiento sostenible de la especie, debido a que es una especie poco estudiada y de importancia para la conservación de los ecosistemas andinos.
- Fomentar la conservación *ex situ* de orquídeas nativas mediante programas de propagación *in vitro*, cultivo de tejidos vegetales y reintroducción en sus hábitats naturales bajo condiciones controlada, contribuyendo a la preservación de la biodiversidad regional.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

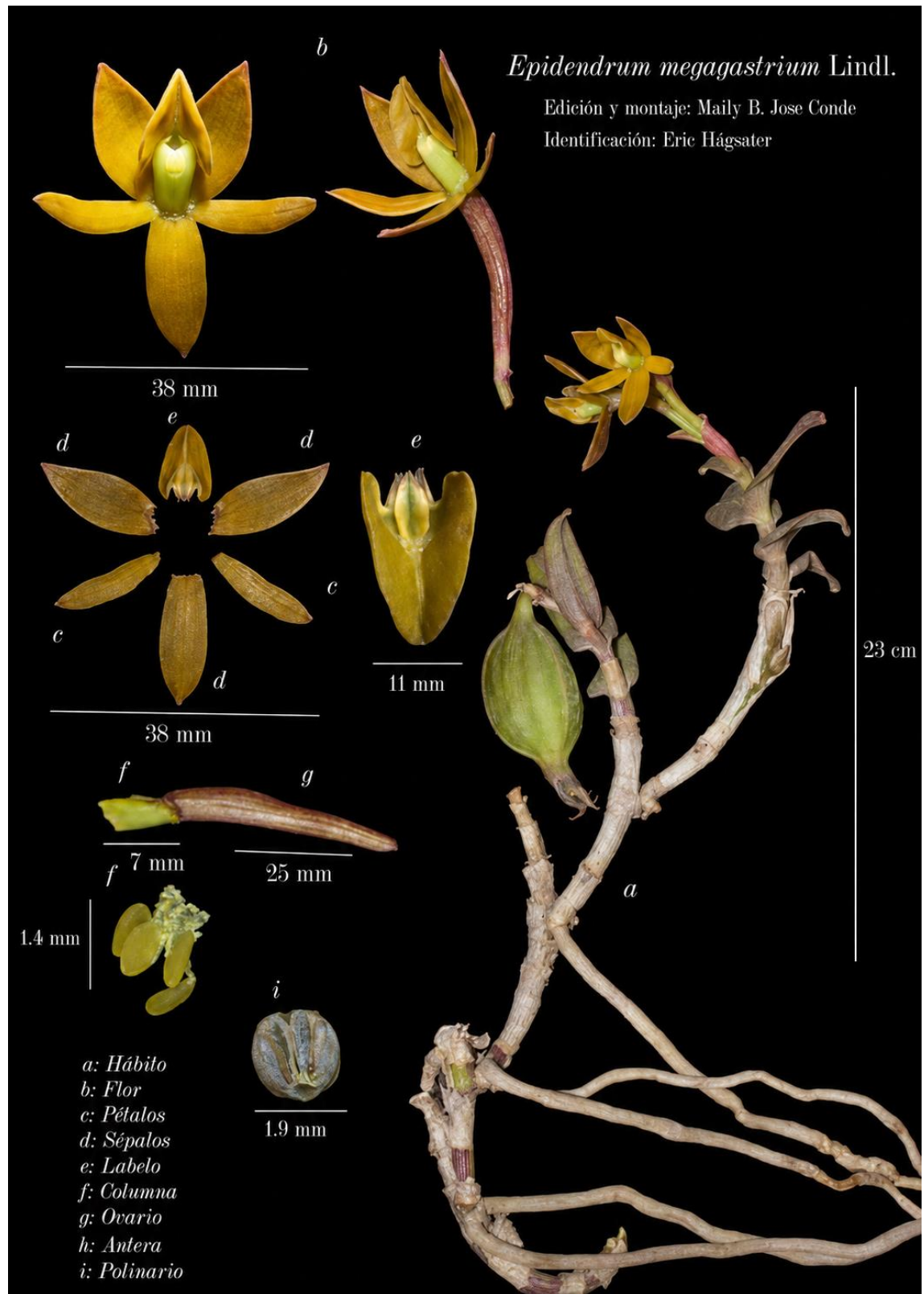
- Apolo Moreno, K. V. (2021). *Evaluación de procedimientos en la conservación y germinación in vitro de semillas de la orquídea Epidendrum nocturnum*. UAGRARIA. [https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/APOLO%20MORENO%20KELLY%20VERONICA%20\(1\).pdf](https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/APOLO%20MORENO%20KELLY%20VERONICA%20(1).pdf)
- Arditti, J., & Ernst, R. (1993). *Micropropagation of Orchids*. Wiley.
- Arditti, J., & Ghani, A. K. A. (2000). Tansley Review No. 110. *New Phytologist*, 145(3), 367-421. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00587.x>
- Arditti, J., & Pridgeon, A. M. (2013). *Orchid Biology: Reviews and Perspectives, VII*. Springer Science & Business Media.
- Benzing, D. H. (1990). *Vascular Epiphytes: General Biology and Related Biota*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511525438>
- Bhjawani, S. S., & Dantu, P. K. (2013). *Plant tissue culture: An introductory text*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9_19
- Bozdemir, H., Çiğ, A., & Türkoğlu, N. (2018). EFFECTS OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF CARBOHYDRATE FORMS ON ORCHIS SANCTA L. PROPAGATION IN VITRO. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(4), 4849-4864. https://doi.org/10.15666/aeer/1604_48494864
- Chase, M. W., Cameron, K. M., Freudenstein, J. V., Pridgeon, A. M., Salazar, G., van den Berg, C., & Schuiteman, A. (2015). An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(2), 151-174. <https://doi.org/10.1111/boj.12234>
- Chimdessa, E. (2020). Composition and Preparation of Plant Tissue Culture Medium. *Journal of Tissue Culture and Bioengineering*. <https://www.gavinpublishers.com/article/view/composition-and-preparation-of-plant-tissue-culture-medium>
- Christenhusz, M., & Byng, J. (2016). 2016 Christenhusz Byng number of known plant species [Dataset].
- Collantes, B. (2014). *Huancavelica: Amaru: paraíso de orquídeas*. Gobierno Regional de Huancavelica, Gerencia Regional de Recursos Naturales y Gestión Ambiental.
- Comisión Nacional Forestal (2011). *Manual para la propagación de orquídeas*. Universidad Veracruzana. https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/documentos/MANUAL_PARA_LA_PROPAGACION_DE_ORQUIDEAS.PDF
- Congreso de la República del Perú. (2011). Ley N° 29763, *Ley Forestal y de Fauna Silvestre*. Ministerio del Ambiente. <https://www.gob.pe/institucion/congreso-de-la-republica/normas-legales/3579-29763>
- Cronquist, A., Takhtajan, A., & Zimmermann, W. (1966). ON THE HIGHER TAXA OF EMBRYOBIONTA. *TAXON*, 15(4), 129-135. <https://doi.org/10.2307/1217531>
- Darwin, C. R. (1862). *On the various contrivances by which British and Foreign Orchids are fertilised by insects*. John Murray.
- Delgado Castro, D. P. (2019). *Evaluación de germinación y desarrollo de dos especies del género Epidendrum (Orchidaceae), cundamarca, Colombia*. Repositorio Institucional UMNG. <https://repository.umng.edu.co/server/api/core/bitstreams/af2a3fd9-8cfb-4240-9dd9-c20e4318de74/content>
- Dressler, R. (1981). The Orchids Natural History and Classification. En *Systematic Botany* (Vol. 6). <https://doi.org/10.2307/1219717>
- Dressler, R. (1993). *Phylogeny and Classification of Orchid Family*.
- Dressler, R. L. (1993). *Phylogeny and classification oh the Orchid Family*. Cambrigge University Press.

- Eras-Guaman, V. H., Yaguana Arevalo, M., Robles Lara, A., & Gonzalez Zaruma, D. (2024). Influencia de la sacarosa en la germinación asimbiótica in vitro de semillas de *Cattleya maxima* Lindl. *CEDAMAZ*, 14(1), 31-35. <https://doi.org/10.54753/cedamaz.v14i1.2041>
- Gartenberg, E. H. (s. f.). *Diversidad y conservación de orquídeas de la región de Chimalapa, Oaxaca, México*. <https://doi.org/10.15468/gsl3el>
- George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G.-J. de. (2008). *Plant propagation by tissue culture* (3rd ed). Springer.
- Gonzales-Arteaga, J. J., Rodríguez-Layza, J., Romero-Rivas, L. C., Párraga-Quintanilla, A., & Olivera-Soto, J. A. (2024). Germinación in vitro de semillas y desarrollo de protocormos de *Epidendrum catillus* Rchb. F & Warsz. (Orchideaceae), en diferentes medios de cultivo. *Manglar*, 21(2), 183-190. <https://doi.org/10.57188/manglar.2024.019>
- Hadley, G., & Williamson, B. (1971). Analysis of the Post-Infection Growth Stimulus in Orchid Mycorrhiza. *New Phytologist*, 70(3), 445-455. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1971.tb02546.x>
- Hágsater, E., & Santiago, E. (Eds.). (2019). *Icones Orchidacearum* (Fascicle 17(1), *The genus Epidendrum*, Part 13: *Species new & old in Epidendrum*). Herbario AMO, Instituto Chinoin, A.C. https://herbarioamo.org/index_archivos/Fascicle17_1.pdf
- Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). (2019). *Conservación in vitro de recursos fitogenéticos*. https://www.inia.gob.pe/wp-content/uploads/2019/12/conservacion_in_vitro_compressed.pdf
- León, B., Pitman, N., & Roque, J. (2006). Introducción a las plantas endémicas del Perú. *Revista Peruana de Biología*, 13(2), 9s-22s. <https://doi.org/10.15381/rpb.v13i2.1782>
- Levi, A., & Sink, K. C. (1990). Differential effects of sucrose, glucose and fructose during somatic embryogenesis in asparagus. *Journal of Plant Physiology*, 137(2), 184-189. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80079-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80079-9)
- Mamani Sánchez, B., Muriel Mamani, A. E., Maquera Pardo, A. N., Nova Pinedo, M., Mamani Sánchez, B., Muriel Mamani, A. E., Maquera Pardo, A. N., & Nova Pinedo, M. (2022). Germinación in vitro de *Epidendrum secundum* con diferentes agentes gelificantes y concentraciones de agua de coco. *Acta Nova*, 10(3), 345-359.
- Mark Welch, J. L., Rossetti, B. J., Rieken, C. W., Dewhirst, F. E., & Borisy, G. G. (2016). Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(6). <https://doi.org/10.1073/pnas.1522149113>
- Martínez-Hernández, M. de J., Alonso López, A., Osorio-Acosta, F., Gallardo López, F., López Moctezuma, H., & Mata Rosas, M. (2009). Evaluación de diferentes fuentes de carbohidratos y medios de soporte, para la multiplicación in vitro de portainjertos de cítricos tolerantes a la tristeza. *Agronomía Tropical*, 59(3), 343-350.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1992). *Germinación, latencia y dormición de las semillas*. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1992_03.pdf
- Ministerio del Ambiente del Perú (2017). *Orquídeas del Perú: diversidad y conservación*. https://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wp-content/uploads/sites/131/2018/12/LIBRO-ORQUIDEAS-2017_.pdf
- Ministerio del Ambiente del Perú (2018). *Listado de especies de flora silvestre CITES-Perú*. Viceministerio de Desarrollo Estratégico de los Recursos Naturales, Dirección General de Diversidad Biológica. <https://www.minam.gob.pe/simposio-peruano-de-especies-cites/wp-content/uploads/sites/157/2018/08/Listado-FLORA-CITES-FINAL.pdf>

- Ministerio del Ambiente del Perú (2024). *Los géneros de orquídeas del Bosque de Protección Alto Mayo*. Sistema Nacional de Información Ambiental (SINIA). https://sinia.minam.gob.pe/sites/default/files/archivos/public/docs/Los%20generos%20de%20orquideas%20BPAM_2024.pdf
- Murashige, T. (1974). Plant Propagation Through Tissue Cultures. *Annual Review of Plant Biology*, 25(Volume 25, 1974), 135-166. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.25.060174.001031>
- Parra Ibañez, J. F. (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 & Skoog comercial (M&S)*.
- Pierik, R. L. M. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Ediciones Mundi Prensa. <https://research.wur.nl/en/publications/cultivo-in-vitro-de-las-plantas-superiores/>
- Pijl, L. V. D., & Dodson, C. H. (1966). *Orchid Flowers: Their Pollination and Evolution*.
- Pospíšilová, J., Tichá, I., Kadleček, P., Haisel, D., & Plzáková, Š. (1999). Acclimatization of Micropropagated Plants to Ex Vitro Conditions. *Biologia Plantarum*, 42(4), 481-497. <https://doi.org/10.1023/A:1002688208758>
- Rasmussen, H. N. (1995). *Terrestrial Orchids: From Seed to Mycotrophic Plant*. Cambridge University Press.
- Rodríguez Farfán, A. B. (2013.) *Inducción de la germinación in vitro de Epidendrum radicans Pav. ex Lindl.*
- Sáñez, J., & Abram, A. P. de. (1995). Cultivo in vitro: Una visión rápida a esta herramienta biotecnológica. *Revista de Química*, 9(2), 111-117.
- Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre. (2019). *Política, ley y reglamentos forestales y de fauna silvestre*. Ministerio de Agricultura y Riego. <https://www.gob.pe/institucion/serfor/informes-publicaciones/1124214-normativa-forestal-y-de-fauna-silvestre>
- Toshio, M., & Folke, S. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Utami, E. S. W., Lestari, S., Wahyuni, D. K., Junairiah, Purnobasuki, H., Hariyanto, S., Istighfari, N., Murtadlo, A. A. A., & Umamah, S. (2026). Improvement of In Vitro Seed Germination and Shoot Development of the Indonesian Endangered Orchid, *Dendrobium lineale* Rolfe, Using Sucrose and Coconut Water. *Scientifica*, 2026(1), 2153196. <https://doi.org/10.1155/sci5/2153196>
- Vilcherrez Atoche, J. A. (2019). *Efecto de la harina de plátano y el agua de coco en medios de cultivo para la micropropagación de orquídeas Cattleya maxima y epidendrum sp.* Repositorio Institucional UNPRG. <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8015>
- Yaseen, M., Ahmad, T., Sablok, G., Standardi, A., & Hafiz, I. A. (2013). Review: Role of carbon sources for in vitro plant growth and development. *Molecular Biology Reports*, 40(4), 2837–2849. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2299-z>
- Yeung, E. C. (2017). A perspective on orchid seed and protocorm development. *Botanical Studies*, 58(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0188-4>

ANEXOS

Anexo 1. Lámina Lankester de *Epidendrum megagastrium* Lindl.



Anexo 2. Exsiccata botánica de *Epidendrum megagastrium* Lindl.



Anexo 3. Efecto de las fuentes de carbono en la germinación de *E. megagastrium*.

Tratamiento	Media	Mediana	H	p
Sacarosa	8	8	11.59	0.0088
Glucosa	16.20	11		
Fructosa	24.40	19		
Maltosa	68.20	70		

Tratamiento	Rango promedio	Grupo
Sacarosa	5.8	A
Glucosa	7.6	A
Fructosa	11	AB
Maltosa	17.6	B

Nota: Grupos con diferente letra indican diferencias estadísticamente significativas (prueba de Kruskal Wallis y comparaciones múltiples de Dum, $p < 0.05$).

Anexo 4. Resultados del análisis estadístico de la Etapa 0 (semillas sin embrión)**Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk**

Estadístico W	Valor p
0.97978	0.9312

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene

Fuente de variación	Df	F	Pr(>F)
Tratamiento	3	0.289	0.8327
Error	16		

Análisis de varianza (ANVA)

Fuente de variación	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	Pr(>F)
Tratamiento	3	197.2	65.73	0.571	0.642
Error	16	1842.0	115.12		

Prueba de comparación múltiple de Tukey

Comparación	Diff	lwr	upr	Valor P
Glucosa - Fructosa	-1.2	-20.61492	18.21492	0.9979511
Maltosa - Fructosa	1.4	-18.01492	20.81492	0.9967627
Sacarosa - Fructosa	7.0	-12.41492	26.41492	0.7339155
Maltosa - Glucosa	2.6	-16.81492	22.01492	0.9801914
Sacarosa - Glucosa	8.2	-11.21492	27.61492	0.6306017
Sacarosa - Maltosa	5.6	-13.81492	25.01492	0.8417338

Anexo 5. Resultados del análisis estadístico de la etapa I (imbibición)

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk

Estadístico W	Valor p
0.9793	0.9250

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene

Fuente de variación	Df	F	Pr(>F)
Tratamiento	3	0.2775	0.8408
Error	16		

Análisis de varianza (ANVA)

Fuente de variación	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	Pr(>F)
Tratamiento	3	203.30	67.78	0.59	0.63
Error	16	1837.20	114.83		

Prueba de comparación múltiple de Tukey

Comparación	Diff	lwr	upr	Valor P
Glucosa - Fructosa	1.4	-17.98961	20.78961	0.9967501
Maltosa - Fructosa	-1.4	-20.78961	17.98961	0.9967501
Sacarosa - Fructosa	-7.0	-26.38961	12.38961	0.7331545
Maltosa - Glucosa	-2.8	-22.18961	16.58961	0.9754193
Sacarosa - Glucosa	-8.4	-27.78961	10.98961	0.6120657
Sacarosa - Maltosa	-5.6	-24.98961	13.78961	0.8412268

Anexo 6. Resultados del análisis estadístico de la etapa II (formación de protocormo)

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk

Estadístico W	Valor p
0.91919	0.09558

Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene

Fuente de variación	Df	F	Pr(>F)
Tratamiento	3	1.054	0.396
Error	16		

Análisis de varianza (ANVA)

Fuente de variación	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	Pr(>F)
Tratamiento	3	10812	3604	13.36	0.000127 ***
Error	16	4317	270		

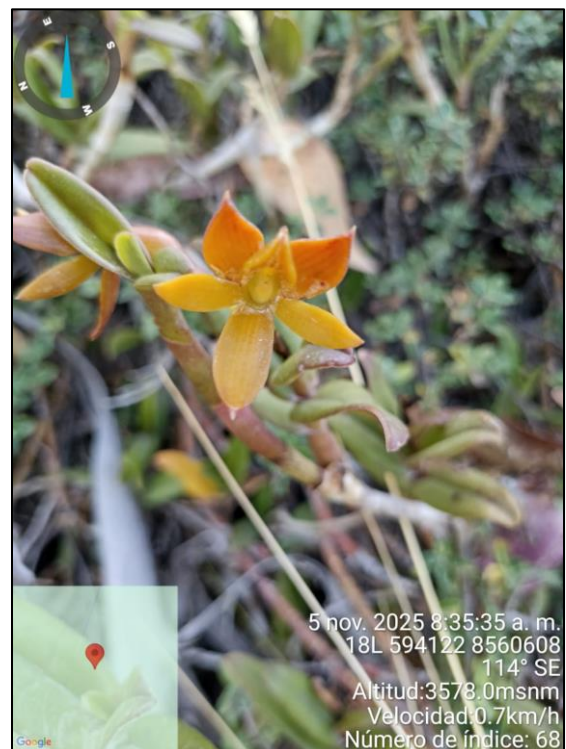
Prueba de comparación múltiple de Tukey

Comparación	Diff	lwr	upr	Valor P
Glucosa - Fructosa	-8.2	-37.92158	21.52158	0.8582173
Maltosa - Fructosa	43.8	14.07842	73.52158	0.0032991
Sacarosa - Fructosa	-16.4	-46.12158	13.32158	0.4174686
Maltosa - Glucosa	52.0	22.27842	81.72158	0.0006742
Sacarosa - Glucosa	-8.2	-37.92158	21.52158	0.8582173
Sacarosa - Maltosa	-60.2	-89.92158	-30.47842	0.0001458

Anexo 7. Fotografías de campo en el Distrito de Quinua.



a. Ubicando la planta de interés.

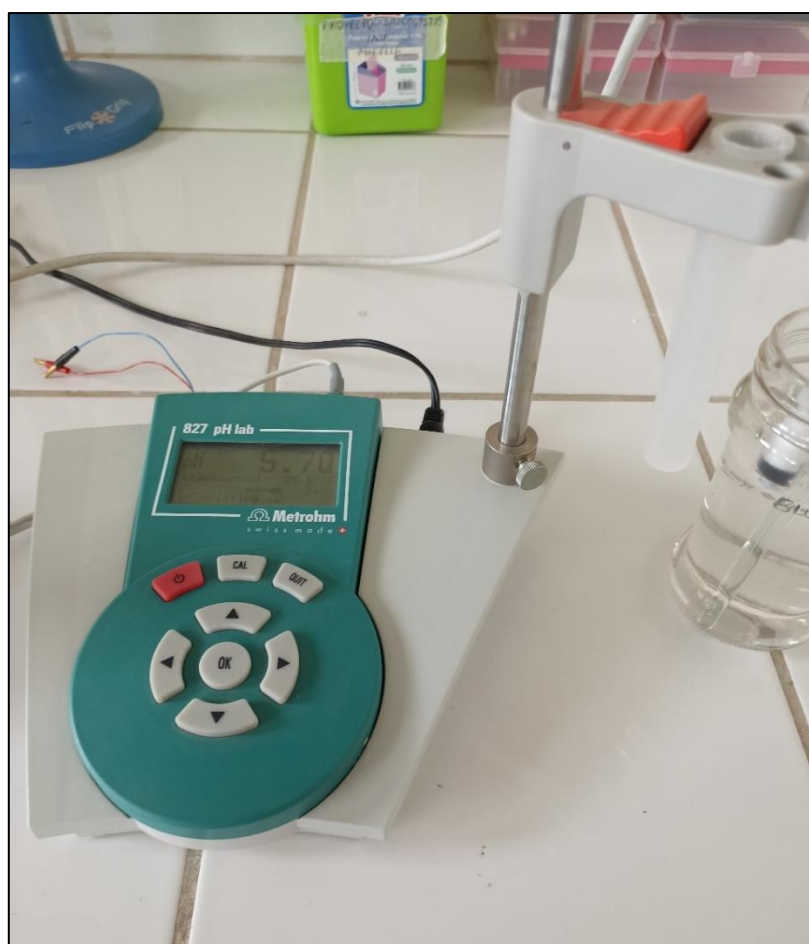


b. Selección y colecta de *E. megagastrium*.

Anexo 8. Preparación del medio Murashige & Skoog (MS) y ajuste de pH.



a. Pesado de las fuentes de carbono a incorporarse en el medio MS.



b. Ajuste del pH del medio MS al valor de 5.7

Anexo 9. Desinfección de la cápsula y siembra de semillas de *Epidendrum megagastrium* Lindl.



Limpieza preliminar



Enjuague de la cápsula



Desinfección con hipoclorito de sodio al 0.5%



Enjuague de la cápsula



Desinfección con etanol al 70%



Siembra



0.5 cm³ semillas disueltas en 20 ml de agua destilada



0.5 cm³ semillas

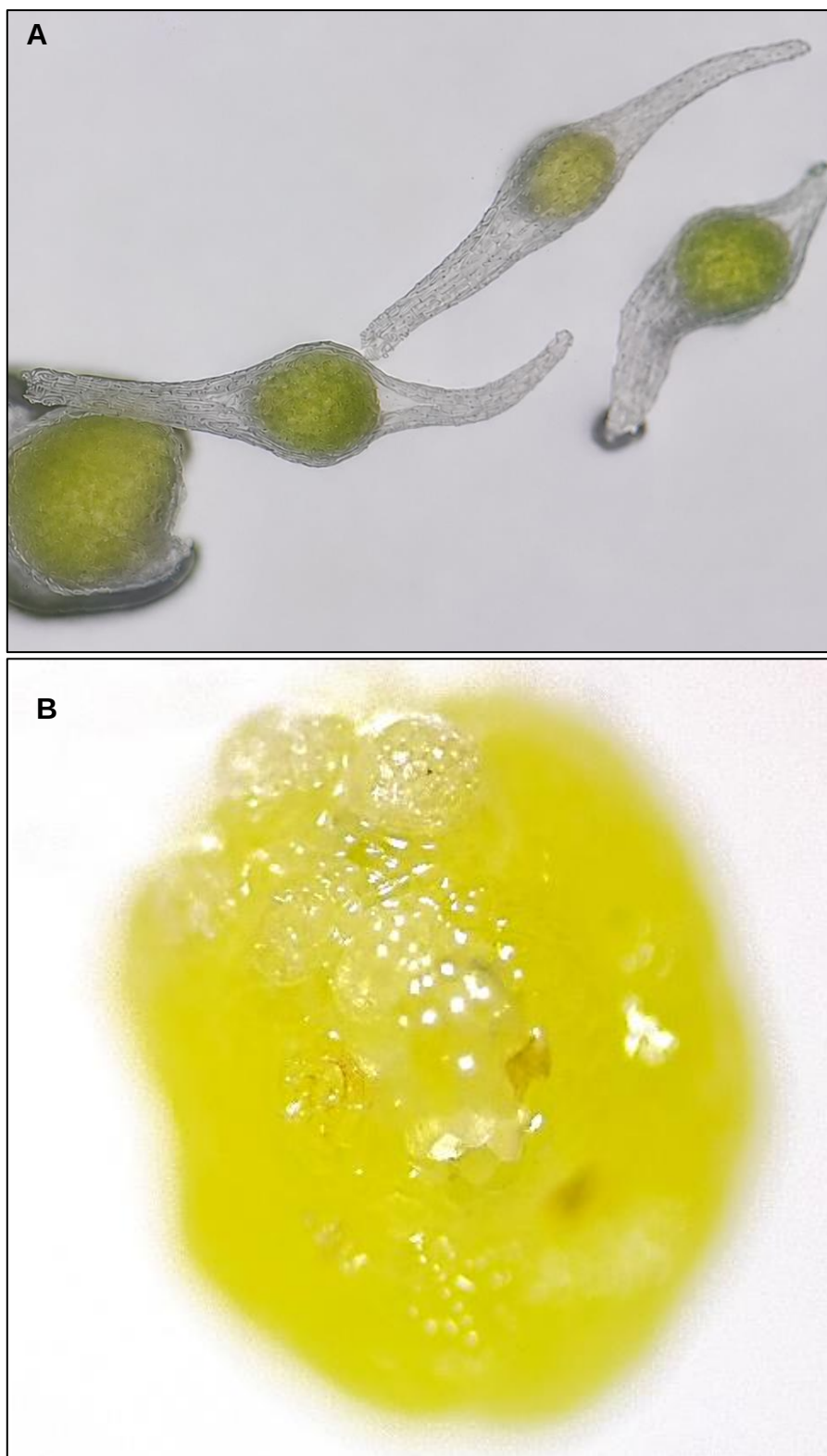


Corte de la cápsula

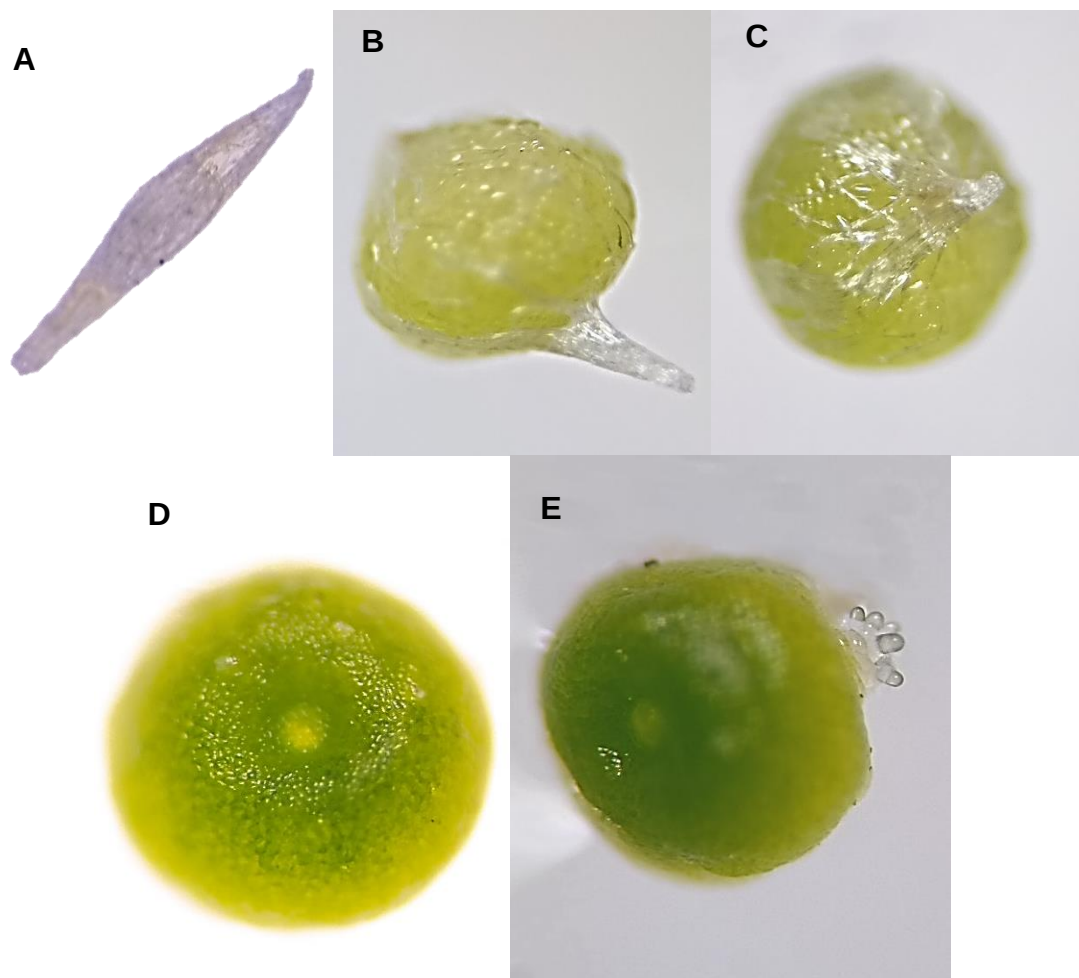


Flameado de la cápsula

Anexo 10. Semillas sin germinar (A) y semillas germinadas (B) de *Epidendrum megagastrium* Lindl.



Anexo 11. Etapas de germinación de *Epidendrum megagastrium* Lindl.



Nota: Etapas de germinación de *Epidendrum megagastrium* Lindl. A) semilla sin embrión; B) y C) hinchamiento de semilla e hidratación (imbibición); y D) y E) formación de protocormo.

Anexo 12. Autorización otorgada por el SERFOR para la investigación en flora silvestre.



SERFOR

Firmado digitalmente por PEZO RUJIZ
Gian Carlo FAU 20062336927.pdf
Cargo: Director
Medio: Soy el autor del documento
Fecha: 15.12.2025 20:13:56 -05:00

RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Magdalena Del Mar, 15 de Diciembre del 2025

RD N° D000227-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF

VISTOS:

El formulario F52, registrado con número de expediente 2025-0055211 de fecha 28 de octubre del 2025, conteniendo la solicitud de autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de áreas naturales protegidas (ANP), presentada por la señora **MAILY BETSABET JOSE CONDE** (la administrada), identificada con DNI N° 73620937, así como, el Informe Técnico N° D000060-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF-COP de fecha 05 de diciembre del 2025, 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 Agricultura, actualmente el 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, el artículo 137° de la precitada Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, 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, según lo dispuesto por 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 fines de lucro; y (iv) propósitos culturales;

Que, mediante el artículo 1° de la Resolución de Dirección General N° D000627-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS, de fecha 15 de noviembre del 2021, la Dirección General

¹ Decreto Supremo N° 043-2008-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 Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.

Firmado digitalmente por WERNER
SANCHEZ TITI Erika Francisco
FAU 20062336927.pdf
Medio: Soy el autor del documento
Fecha: 15.12.2025 09:03:19 -05:00

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: X54G7CC



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre (DGGSPFFS) del SERFOR resolvió delegar en la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal (DGSPF), la función de otorgar permisos de investigación o de difusión cultural con o sin colecta de flora silvestre y sus recursos genéticos, contenida en el literal g), del artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI y modificado por Decreto Supremo N° 016-2014-MINAGRI; delegación efectuada en aplicación del numeral 78.1 del artículo 78° del Texto Único Ordenado - TUO de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS;

Que, a través del Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, que aprueba el Reglamento para la Gestión Forestal, en el artículo 154°, señala que regula el procedimiento de otorgamiento de autorizaciones con fines de investigación científica, señalando que la investigación del Patrimonio Forestal, se aprueban mediante autorizaciones, salvaguardando los derechos del país respecto a su patrimonio genético nativo; y establece para tal efecto los requisitos y consideraciones para su otorgamiento, de acuerdo con el numeral 5.3.2 los *Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre*, aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; así como, las obligaciones materia de cumplimiento por parte de la titular de la autorización;

Que, en ese contexto mediante formulario F52, registrado con número de expediente 2025-0055211 de fecha 28 de octubre del 2025, a través de la mesa de partes virtual del SERFOR, la administrada solicitó a la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal (DGSPF) la autorización de investigación científica de flora silvestre para realizar el proyecto denominado: **Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025**; investigación que contempla la colecta de flora silvestre;

Que, mediante carta N° D000660-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF de fecha 25 de noviembre del 2025, la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal comunicó a la administrada las siguientes observaciones: a) presentar las fichas de datos del personal investigador que acompaña al investigador principal; b) adecuar el proyecto de tesis al formato del plan de investigación; c) desarrollar los métodos y técnicas y el procedimiento de la colecta de cápsulas maduras de semillas de *Epidendrum megagastrium*, citando fuentes bibliográficas, señalar el laboratorio donde realizará el proceso de germinación *in vitro*; d) explicar cómo se realizará la identificación taxonómica de la especie a estudiar; e) explicar cuál será el destino final del material propagado al término del estudio, entregar a la Autoridad Regional Forestal y de Fauna Silvestre todos los ejemplares propagados mediante acta con información detallada del material colectado, y parámetros de evaluación; f) señalar la Institución Científica Nacional Depositaria de Material Biológico (ICNDB), registrada por el SERFOR, donde se depositarán las muestras botánicas; g) incorporar la colecta de ejemplar para determinación taxonómica y especificar el tipo, cantidad de muestra a colectar y finalidad; h) incorporar las actividades de depósito del material botánico colectado en una Institución Científica Nacional Depositaria de Material Biológico (ICNDB), registrada por el SERFOR, germinación *in vitro* y entrega del informe final al SERFOR;

Que, mediante carta s/n, de fecha 03 de diciembre del 2025, registrada con expediente 2025-0062752, la administrada remitió a la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal el levantamiento de las observaciones;

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: X54G7CC



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Que, de conformidad con el artículo 154° del Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado por Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, y en ejercicio de la función delegada a través del artículo 1° de la Resolución de Dirección General N° D000627-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS, se desprende que corresponde a la DGSPF evaluar la solicitud y, en su caso, otorgar la autorización con fines de investigación, puesto que se desarrollará fuera del ámbito de ANP e implicará el estudio de una especie CITES;

Que, por tanto, la citada solicitud ha sido evaluada en mérito a los requisitos establecidos en el Procedimiento PA1110EE32 del Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del SERFOR, aprobado mediante Decreto Supremo N° 012-2024-MIDAGRI y su modificatoria, en concordancia con los *Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre*, aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE;

Que, asimismo, la solicitud se encuentra sujeta a las condiciones establecidas en el numeral 9 del ANEXO N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal; en concordancia con el numeral 6.6 de los lineamientos aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, los cuales se detallan a continuación: i) Solicitud con carácter de declaración jurada que contenga información sobre el investigador, según formato; ii) Hoja de vida del investigador principal y plan de investigación, según formato; iii) Carta de presentación de los investigadores participantes, emitida por la institución académica u organización científica nacional o extranjera de procedencia; iv) Documento que acredite el consentimiento informado previo, expedido por la respectiva organización comunal representativa, de corresponder; y v) Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan a los investigadores nacionales y extranjeros, en caso la solicitud sea presentada por un investigador extranjero;

Que, en ese sentido, la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal a través del Informe Técnico N° D000060-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF-COP de fecha 05 de diciembre del 2025; concluye que, la solicitud formulada por la administrada corresponde ser atendida por el SERFOR – sede central, en concordancia con lo dispuesto en el artículo 154° del Reglamento para la Gestión Forestal, puesto que es una investigación básica que se desarrollará fuera del ámbito de ANP e implicará el estudio de una especie CITES y no comprende el acceso a los recursos genéticos; además, conforme a lo señalado en el plan de investigación, la identificación taxonómica de la especie se realizará mediante protocolos convencionales de identificación. Las muestras botánicas colectadas para determinación taxonómica serán depositadas Herbario San Cristóbal de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Institución Científica Nacional Depositaria de Material Biológico; asimismo, que la solicitud de investigación científica presentada por la administrada cumple con los requisitos contemplados en el Procedimiento PA1110EE32 del Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 012-2024-MIDAGRI y su modificatoria, concordantes con los Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre, aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, así como, con las condiciones mínimas y los criterios técnicos para su ejecución, considerándose procedente el plazo propuesto para el desarrollo de las actividades con fines de investigación de flora silvestre, con colecta, por el periodo de siete (07) meses;

Que, asimismo, dicho Informe Técnico recomienda la emisión del acto administrativo que aprueba la solicitud de investigación científica de flora silvestre, fuera de ANP, para el desarrollo del proyecto denominado **Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megastrium* Lindl., Ayacucho 2025**; cuyos

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: X54G7CC



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

hallazgos de la investigación generarán información científica nueva que permitirá optimizar un protocolo de micropropagación, facilitar su conservación y promover su uso sostenible; por lo cual este estudio no solo ayudará a proteger una especie nativa, sino que también fortalecerá el conocimiento biotecnológico aplicado a las orquídeas de la región;

Que, por otro lado, el artículo 158° del Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, establece como obligaciones del investigador en flora silvestre que son las siguientes:

- a. *No extraer especímenes, ni muestras biológicas, de flora silvestre no autorizadas; no ceder los mismos a terceras personas, ni utilizarlos para fines distintos a lo autorizado.*
- b. *Entregar al SERFOR un informe final en idioma español y en versión digital, como resultado de la autorización otorgada, así como copia de las publicaciones producto de la investigación realizada, e indicar el número de la Autorización en las publicaciones generadas. Esta información es ingresada al SNIFFS.*
- c. *Solicitar el correspondiente permiso de exportación ante el SERFOR a través de la Ventanilla Única de Comercio Exterior - VUCE, así como pasar el control respectivo, en caso se requiera enviar al extranjero parte del material colectado, por razones científicas acotadas. Los ejemplares únicos de los grupos taxonómicos colectados y holotipos solo podrán ser exportados en calidad de préstamo.*

Que, asimismo, en el marco de la autorización otorgada, la administrada considerará los siguientes compromisos:

- a. *Comunicar con la debida a la Dirección Forestal y de Fauna Silvestre del Gobierno Regional de Ayacucho, a fin de coordinar el ingreso y salida a campo.*
- b. *Indicar el número de la resolución en las publicaciones generadas a partir de la autorización concedida.*
- c. *Solicitar anticipadamente ante la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal del SERFOR y dentro del periodo del cronograma de trabajo del plan de investigación, cualquier cambio en las características del estudio aprobado (por ejemplo, cronograma, inclusión de investigadores, etc.), que demande la modificación de la presente resolución.*
- d. *En caso sobrevenga algún hecho o evento que imposibilite la ejecución de la investigación autorizada o que origine que no se pueda continuar con el desarrollo de la misma, corresponde al administrado solicitar por escrito ante la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal del SERFOR, la renuncia a la autorización otorgada; renuncia que deberá ser solicitada dentro del plazo de vigencia de la autorización, precisándose el hecho o evento que origina la imposibilidad de ejecutar o de continuar ejecutando la investigación aprobada, debiendo además el administrado adjuntar la documentación de sustento que estime necesaria, de ser el caso.*
- e. *Todos los ejemplares logrados de las especies estudiadas, producto de la propagación in vitro, serán entregados mediante acta al Centro de Propagación de Especies Ornamentales de Flora Silvestre a nombre de la empresa ENOCOON S.A. de la cual se cuenta con una carta de aceptación y compromiso institucional de apoyo a la investigación científica y conservación de las plantas generadas a partir de la investigación titulada: "Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación in vitro de Epidendrum megagastrium Lindl., Ayacucho 2025". En la referida acta se informarán parámetros de mortandad y éxito de los ejemplares, tamaño, nombre científico, entre otros.*
- f. *La empresa ENOCOON S.A. se compromete a: recibir, mantener y conservar las plántulas obtenidas mediante in vitro, no emplear el material biológico con fines comerciales ni de distribución, salvo lo permitido por la normativa; garantizar que las plantas serán manejadas de acuerdo con los estándares técnicos de conservación ex*

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: X54G7CC



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

situ; mantener registro de ingreso y estado de las plántulas recibidas y facilitar información a SERFOR en caso sea requerida.

- g. La Dirección Forestal y de Fauna Silvestre del Gobierno Regional de Ayacucho, en su calidad de Autoridad Regional Forestal y de Fauna Silvestre realizará la supervisión de la entrega de las plantas generadas producto de la investigación y realizará el seguimiento de los compromisos asumidos por el Centro de Propagación de Especies Ornamentales de Flora Silvestre de la empresa ENOCOON S.A. en materia de conservación de las referidas plantas.

Que, por otro lado, el artículo 100° del Reglamento para la Gestión Forestal y de Fauna Silvestre en Comunidades Nativas y Comunidades Campesinas, señala lo siguiente:

"Investigaciones científicas realizadas dentro de las tierras de comunidades campesinas y comunidades nativas"

Toda investigación científica en materia forestal y de fauna silvestre a realizarse dentro de tierras de comunidades campesinas o comunidades nativas, requiere de la autorización expresa de la comunidad y autorización otorgada por la autoridad correspondiente. (...)"

Que, en adición a ello, debemos precisar que, una autorización para realizar estudios de investigación no habilita el ingreso a predios privados, en cuyos casos, deberán gestionar la autorización de ingreso correspondiente ante la autoridad o titular del área, 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 TUPA del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 012-2024-MIDAGRI y su modificatoria; los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre", aprobados mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; el literal g), del Artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI y su modificatoria mediante Decreto Supremo N° 014-2016-MINAGRI; el TUO de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS; 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, a la señora **MAILY BETSABET JOSE CONDE**, identificada con DNI N° 73620937, correspondiéndole el Código de Autorización N° AUT-IFL-2025-121; para el desarrollo del proyecto titulado **Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025**; que se realizará en el distrito de Quinua, en la provincia de Huamanga, en el departamento de Ayacucho, donde se colectarán cápsulas de *Epidendrum megagastrium* Lindl. para ser trasladados al Laboratorio de la Especialidad de Biotecnología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, para la propagación *in vitro*, así como ejemplares para identificación taxonómica; en conformidad con lo señalado en la Tabla N°

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: X54G7CC



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

1 del ANEXO 1; cuya vigencia se contabilizará desde la fecha de emisión de la presente resolución⁴.

Artículo 2.- Autorizar la participación de los investigadores señalados por la administrada, conforme con lo señalado en el ANEXO 2 de la presente resolución

Artículo 3.- El ingreso y desarrollo de las actividades de investigación científica dentro de tierras comunales, áreas de conservación privada (ACP), áreas de conservación regional (ACR), predios privados y títulos habilitantes que abarquen las localidades de muestreo de la investigación, deberán ser autorizadas previamente por la autoridad o titular correspondiente, por lo que es responsabilidad de la administrada obtener la autorización de ingreso antes de la ejecución de la investigación, en caso corresponda.

Artículo 4.- La administrada se encuentra sujeta al cumplimiento de lo presentado en el plan de investigación evaluado y al plazo correspondiente a siete (07) meses, así como la colecta de material biológico de flora silvestre de acuerdo con lo señalado en el ANEXO 3. El material biológico colectado para identificación taxonómica será depositado en el Herbario San Cristóbal de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Institución Científica Nacional Depositaria de Material Biológico registrada por el SERFOR. Se prevé la exportación de muestras para identificación al Herbario AMO de México. Asimismo, deberán cumplir con las obligaciones establecidas en la legislación forestal y de fauna silvestre, según lo señalado en la parte considerativa de la presente resolución.

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, y deberá ser presentado a la culminación de la investigación (julio – 2026).

Artículo 6.- La presente autorización no limita el ejercicio de las funciones y/o requisitos de las entidades, en los ámbitos en los que se realice la investigación (ARFFS, ACR, ACP y otros).

Artículo 7.- Toda modificación en el desarrollo de la investigación será comunicada al SERFOR dentro del plazo de vigencia de la presente resolución.

Artículo 8.- La presente autorización no habilita la exportación de muestras biológicas, en caso se requiera realizar esta actividad, la administrada y los investigadores identificados en la presente resolución, podrán gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR.

Artículo 9.- La contravención a las obligaciones y/o condiciones establecidas en la presente resolución conllevará a la comisión de la infracción tipificada en el numeral 5) del Anexo 1 del Cuadro de Infracciones y Sanciones en materia forestal, aprobado mediante el Decreto Supremo N° 007-2021-MIDAGRI. Cabe mencionar que el material biológico colectado no podrá ser utilizado para fines distintos a lo autorizado, bajo apercibimiento de configurarse el supuesto establecido en la mencionada normativa. En caso de realizar investigaciones para otros fines con el material autorizado, se deberá solicitar una nueva autorización.

⁴ Decreto Supremo N° 004-2019-JUS. Texto Único Ordenado de la Ley 27444 "Ley del Procedimiento Administrativo General"

Artículo 16. El acto administrativo que otorga beneficio al administrado se entiende eficaz desde la fecha de su emisión, salvo disposición diferente del mismo acto.

Anexo 13. Certificación de la especie de *Epidendrum megagastrium* Lindl.



Herbario AMO
Eric Hagsater

Ciudad de México a 8 de mayo de 2026.

A quien corresponda:

A solicitud de la interesada, hago constar que **Maily Betsabet Jose Conde**, solicitó mi opinión en la determinación taxonómica de la especie *Epidendrum megagastrium* Lindl. para llevar a cabo el proyecto de tesis titulada: **Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025.**

Por medio de la presente certifico que la especie utilizada para el desarrollo de la tesis antes mencionada es, efectivamente, *E. megagastrium* Lindl.

Sin más por el momento y esperando haber cumplido con sus disposiciones, quedo a sus órdenes para cualquier duda o aclaración al respecto.

Atentamente.

ING. ERIC RAGNAR WOLKO HAGSATER GARTENBERG
Director

Anexo 14. Matriz de consistencia.

Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025

Autor: Maily Betsabet Jose Conde

Asesor: Mg. Reynán Córdor Alarcón

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
¿Cómo influyen las diferentes fuentes de carbono en la germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl?, Ayacucho 2025?	Objetivo General Evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl., Ayacucho 2025. Objetivo específico - Determinar el efecto de la sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa en la germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl. - Evaluar las diferentes etapas de germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl.	Antecedente - Antecedente internacionales y nacionales. Marco conceptual - Orquídeas (género <i>Epidendrum</i>) - Germinación - Cultivo <i>in vitro</i> - Fuente de carbono - Sacarosa - Glucosa - Fructosa - Maltosa - Marco legal	Las diferentes fuentes de carbono (sacarosa, glucosa, fructosa y maltosa) tienen diferentes influencias en la germinación <i>in vitro</i> de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl., Ayacucho 2025.	Variable Independiente Fuente de carbono Niveles - Sacarosa 3% - Glucosa 3% - Fructosa 3% - Maltosa 3% Variable Dependiente - Germinación (%). - Etapas de germinación (%)	Tipo de investigación Básica - experimental Población Semillas de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl. del distrito de Quinua. Muestra Semillas procedentes de una cápsula de <i>Epidendrum megagastrium</i> Lindl. Recolección de datos - Hojas de registro - Cámara fotográfica Procedimiento general - Preparación de medio - Desinfección - Siembra - Recolección de datos Análisis estadístico Se evaluará los datos mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, considerando un nivel de confianza del 95 %.

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS****Bach. Maily Betsabet JOSE CONDE****RESOLUCIÓN DECANAL N° 146-2026-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día martes once de agosto del año dos mil veintiséis; 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, participando como presidente encargado el Dr. Fidel Rodolfo MUJICA LENGUA con Memorando N° 192-2026-UNSCH-FCB, con fecha once de agosto del año dos mil veintiséis; a su vez (Miembro – Jurado), la Mg. Jenny Olga ARREA PAUCAR (Miembro – Jurado), el Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN (Miembro – Asesor) y el Mg. Luis Uriel MOSCOSO GARCÍA actuando como secretario docente, para presenciar la sustentación de tesis titulada: Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025, presentado por la Bach. Maily Betsabet JOSE CONDE; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones correspondientes; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Dr. Fidel Rodolfo MUJICA LENGUA	19	19	19
Mg. Jenny Olga ARREA PAUCAR	18	16	17
Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN	18	17	18
PROMEDIO			18

La sustentante alcanzó el promedio de dieciocho (18) aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público asistente al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis de la tarde del mismo día; firmando al pie del presente en señal de conformidad.

Dr. Fidel Rodolfo MUJICA LENGUA
Presidente (e)
Miembro - Jurado

Mg. Jenny Olga ARREA PAUCAR
Miembro - Jurado

Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN
Miembro – Jurado y Asesor

Mg. Luis Uriel MOSCOSO GARCÍA
Secretario Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA-ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 44-2026-FCB-D

Yo, SERAPIO ROMERO GAVILÁN, 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 diferentes fuentes de carbono en la germinación *in vitro* de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025**, por MAILY BETSABET JOSE CONDE; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 6%, 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, 31 de agosto de 2026.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología

Dr. Serapio Romero Gavilán
DIRECTOR

Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación in vitro de *Epidendrum megagastrium* Lindl., Ayacucho 2025

por MAILY BETSABET JOSE CONDE

Fecha de entrega: 31-ago-2026 02:28p. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 3021379159

Nombre del archivo: JOSE_CONDE,_Maily_Betsabet-pregrado-2026_TURNITIN_PDF.pdf (1.33M)

Total de palabras: 10596

Total de caracteres: 60067

Efecto de diferentes fuentes de carbono en la germinación in vitro de Epidendrum megagastrium Lindl., Ayacucho 2025

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%	6%	2%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	2%
	Trabajo del estudiante	
3	Escuela Izquierdo, Niza Mar. "Nepeta teydea Webb & Berthel. Caracterizacion estructural y cinetica de la respuesta estres luminico. Desarrollo de un modelo biologico de deteccion de cambio climatico.", Universidad de La Laguna (Canary Islands, Spain), 2022	1%
	Publicación	
4	baadalsg.inflibnet.ac.in	<1%
	Fuente de Internet	
5	revistas.unl.edu.ec	<1%
	Fuente de Internet	
6	www.ilustrados.com	<1%
	Fuente de Internet	
7	repositorio.uchile.cl	<1%
	Fuente de Internet	

Excluir citas	Activo	Excluir coincidencias	< 30 words
Excluir bibliografía	Activo		