

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



TESIS:

**Efecto del medio MS y dos fitorreguladores en la
germinación y formación de protocormos *in vitro* de
Phragmipedium caudatum (Lindl.) Rolfe, Ayacucho 2024**

Para optar el título profesional de:

BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: BIOTECNOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Bach. Marcia Fernanda INFANTE CORAS

ASESOR:

Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN

COASESORA:

Mg. Paula García GODOS ALCÁZAR

AYACUCHO - PERÚ

2026

A mis hermanos y en especial a mis
padres quienes me brindan su apoyo
incondicional

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por la formación académica en estos años de la carrera profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, por ser mi segundo hogar, por brindarme muchas experiencias en mi vida estudiantil.

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

A mis asesores, Mg. Reynán Cóndor Alarcón y Mg. Paula García Godos Alcázar, por su apoyo incondicional en todo el trayecto de esta investigación, por su orientación y buenos consejos, que me han permitido terminar con la presente tesis de pregrado.

Por último, expreso mi gratitud a todos los que estuvieron conmigo, acompañándome en cada paso para poder culminar con esta etapa de mi vida.

ÍNDICE

	Pag.
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. ANTECEDENTES	3
2.1.1. Antecedentes internacionales	3
2.1.2. Antecedentes nacionales	4
2.2. MARCO CONCEPTUAL	5
2.2.1. Germinación	5
2.2.2. Protocormos	5
2.2.3. Propagación vegetal <i>in vitro</i>	5
2.2.4. Micropropagación	6
2.2.5. Murashige y Skoog	6
2.2.6. Fitorreguladores	6
2.2.7. Ácido indol acético	7
2.3. BASES TEÓRICAS	7
2.3.1. La orquídea	7
2.3.2. Distribución en el Perú	7
2.3.3. Morfología de la orquídea	8
2.3.4. <i>Phragmipedium caudatum</i>	11
2.3.5. Propagación <i>in vitro</i> de orquídeas	13
2.3.6. Germinación <i>in vitro</i> de orquídeas	13
2.4. MARCO LEGAL	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. Ubicación Política	20
3.2. Ubicación geográfica	20
3.3. Población y muestra	21
3.3.1. Población	21
3.3.2. Muestra	21

3.4.	Tipo de investigación	21
3.5.	Metodología y recolección de datos	21
3.5.1.	Recolección y selección de material vegetal	21
3.5.2.	Preparación de los medios de cultivo	22
3.5.3.	Desinfección de las semillas, y siembra en los medios de cultivo	23
3.5.4.	Siembra de las semillas	24
3.6.	Recolección de datos	24
3.7.	Análisis de los datos	25
IV.	RESULTADOS	26
V.	DISCUSIÓN	39
VI.	CONCLUSIONES	44
VII.	RECOMENDACIONES	45
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
	ANEXOS	51

	ÍNDICE DE TABLAS	Pag.
Tabla 1.	Ubicación política del Centro Poblado de Toccate y Laboratorio de Biotecnología Vegetal.	20
Tabla 2.	Ubicación geográfica del Centro Poblado Toccate y del Laboratorio de Biotecnología Vegetal.	20
Tabla 3.	Diseño experimental para la germinación y formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, con fotoperiodo 16h luz/8h oscuridad a 22 ± 2 °C	23
Tabla 4.	Análisis de varianza de la germinación <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.	31
Tabla 5.	Análisis de varianza para la formación de protocormos <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.	33
Tabla 6.	Análisis de varianza de la germinación <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.	35
Tabla 7.	Análisis de varianza para la formación de protocormos <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.	37

	ÍNDICE DE FIGURAS	Pag.
Figura 1.	Estructura de una flor de orquídea (Freuler, 2008).	8
Figura 2.	Tipos de hojas en orquídeas. (Freuler, 2008)	9
Figura 3.	Proceso de germinación de semillas de orquídeas (Rodríguez, 2013)	10
Figura 4.	<i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe. Elaboración propia	12
Figura 5.	Mapa de ubicación geográfica del punto de muestreo en la localidad de Toccate.	21
Figura 6.	Germinación <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe a los 70 días después de la siembra ($x \pm EE$), Ayacucho 2026	27
Figura 7.	Formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe a los 70 días después de la siembra ($x \pm EE$), Ayacucho 2026.	28
Figura 8.	Germinación <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe a 90 días después de la siembra ($x \pm EE$), Ayacucho 2026	29
Figura 9.	Formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe a 90 días después de la siembra ($x \pm EE$), Ayacucho 2026	30
Figura 10.	Efectos principales del medio MS, AIA y AG ₃ en la germinación <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra, Ayacucho 2026	32
Figura 11.	Evaluación Tukey ($p < 0.05$) en (A) interacciones de AIA*MS, (B) interacción de AG ₃ *MS, (C) interacción de AIA*AG ₃ , para la formación de protocormos <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra	34
Figura 12.	Efectos principales del medio MS, AIA y AG ₃ en la germinación <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra, Ayacucho 2026	36

Figura 13. Evaluación Tukey ($p < 0.05$) en (A) interacción de MS*AIA, (B) interacción de AG₃*MS para el proceso de formación de protocormos *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra. 38

	ÍNDICE DE ANEXOS	Pag.
Anexo 1.	Matriz de consistencia.	52
Anexo 2.	Tabla de Excel del día 70 de evaluación de la germinación y formación de protocormos de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, hasta la repetición 5.; T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8).	53
Anexo 3.	Tabla de Excel del día 90 de evaluación de la germinación y formación de protocormos de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, hasta la repetición 5.; T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8).	54
Anexo 4.	Composición de medio Murashige y Skoog	55
Anexo 5.	Análisis de varianza de la germinación <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.	56
Anexo 6.	Formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe a los 70 días después de la siembra ($\bar{x} \pm EE$), Ayacucho 2026.	56
Anexo 7.	Análisis de varianza de la germinación <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.	56
Anexo 8.	Análisis de varianza para la formación de protocormos <i>in vitro</i> a partir de semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.	57
Anexo 9.	Evaluación de tukey ($p < 0.05$) para la formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, en interacción de MS y AIA, a los 70 días después de la siembra.	57
Anexo 10.	Evaluación de tukey ($p < 0.05$) por parejas MS y AG ₃ , para la formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.	57
Anexo 11.	Evaluación de tukey ($p < 0.05$) por parejas AIA y AG ₃ , para la formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra	57

Anexo 12.	Evaluación de tukey ($p < 0.05$) por parejas MS y AIA, para la formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.	58
Anexo 13.	Evaluación de tukey ($p < 0.05$) por parejas MS y AG ₃ , para la formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.	58
Anexo 14.	Semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.	58
Anexo 15.	Hinchazón y ruptura de testa de Semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe. laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.	59
Anexo 16.	Germinación y Formación de protocormos <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.	59
Anexo 17.	<i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, Centro poblado de Toccate, Anco, La Mar, Ayacucho 2025.	60
Anexo 18.	Cápsulas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, del Centro poblado de Toccate, Anco, La Mar, Ayacucho 2025.	60
Anexo 19.	Cápsulas maduras de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.	60
Anexo 20.	Medios de cultivo y reguladores de crecimiento	61
Anexo 21.	Desinfección de la semilla y siembra <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.	61
Anexo 22.	Protocormos de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe transferidos a un medio de cultivo con carbón activado	62
Anexo 23.	Protocolo para la siembra de las semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe. En medio de cultivo <i>in vitro</i>	63
Anexo 24.	Depósito en el Herbario San Cristóbal de Huamanga	64
Anexo 25.	Constancia de identificación	65

RESUMEN

La familia Orchidaceae representa uno de los grupos de mayor diversidad vegetal; sin embargo, muchas de sus especies se encuentran vulneradas debido a la extracción ilegal y la pérdida de su hábitat, en este contexto la micropropagación de orquídeas constituye un recurso clave para la conservación y producción sostenible de especies de alto valor ecológico. En el presente estudio se evaluó el efecto del medio Murashige y Skoog a dos concentraciones (MS al 50 % y 100 %) y la adición de fitorreguladores, ácido indolacético (AIA; 0,5 y 1,0 mg/L) y ácido giberélico (AG₃; 1,0 y 1,5 mg/L) sobre la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. Se aplicó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2³ de ocho tratamientos, evaluados a 70 y 90 días después de la siembra. Los resultados evidenciaron que la germinación no presentó diferencias significativas a los 70 días; sin embargo, a los 90 días el tratamiento T7 (MS 50 % + 1,0 mg/L AIA + 1,0 mg/L AG₃) obtuvo el mayor porcentaje de germinación (14,98 %). En cuanto a la formación de protocormos, sí se observaron efectos significativos asociados a los fitorreguladores y a sus interacciones. El mayor porcentaje de protocormos a los 90 días correspondió al tratamiento T5 (MS 50 % + 0,5 mg/L AIA + 1,0 mg/L AG₃), con 12,64 %. También se observó que las interacciones MS*AIA y MS*AG₃ presentaron efectos significativos ($p < 0,05$), evidenciando que la combinación de sales minerales y fitorreguladores modula de manera sinérgica la diferenciación embrionaria. Los resultados evidencian que *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe responde favorablemente a medios con MS al 50 % suplementados con AIA y AG₃, los cuales no manifiestan efectos inmediatos en la germinación, pero sí afecta de manera determinante en la formación de protocormos a etapas posteriores. Se concluye que las combinaciones hormonales adecuadas pueden optimizar de manera importante los protocolos de micropropagación *in vitro* de esta especie, contribuyendo a su conservación.

Palabras Clave: Fitorreguladores, AIA, AG₃, Medio Murashige y Skoog (MS), germinación *in vitro*, protocormos, *Phragmipedium caudatum*.

I. INTRODUCCIÓN

Las orquídeas, con unas 28000 especies, constituyen la segunda familia de plantas con flores más diversa, esta diversidad se refleja en sus hábitos de crecimiento, la mayoría son epífitas, un hábito del 70% de orquídeas a nivel global (Tarazona et al., 2025). En Perú la familia Orchidaceae, es la más diversa se estima que alberga entre 2600 a 3000 especies, debido a que contamos con una gran variedad de microclimas y pisos ecológicos. Sin embargo, muchas de estas están amenazadas por la extracción discriminada, agravando este problema por sus bajos niveles de abundancia, como su alta sensibilidad a cambios ambientales y la calidad de su hábitat (SERFOR, 2020a). Como consecuencia de estas amenazas que enfrentan las orquídeas, han sido incorporadas en los Apéndices de la CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de las Especies Amenazadas), con el fin de regular su comercio y conservarlas. Según la categorización oficial de especies de flora silvestre amenazada, establecida mediante el Decreto Supremo N° 043-2006-AG, en Perú se han identificado 62 especies de orquídeas en estado Crítico (CR), 19 en estado En Peligro (EN) y 220 en condición Vulnerable (VU). Además, la totalidad de especies del género *Phragmipedium* están listadas en el apéndice I de la CITES, mientras que el resto de especies presentes en el país están incluidas en el Apéndice II de CITES. Las especies del género *Phragmipedium* son plantas terrestres y epífitas, con hojas plegadas a lo largo de su longitud, con una coloración verde y gran variedad de tamaño, las flores emergen del centro de las hojas (SERFOR, 2020).

La reproducción de orquídeas a través de semillas presenta dificultades debido a su tamaño, ya que son extremadamente pequeñas, y carecen de reservas nutricionales internas. Como resultado, no pueden germinar de manera autónoma, su germinación

depende de la asociación simbiótica con hongos micorrícicos, los que les suministran los nutrientes hasta que la plántula desarrolle la capacidad de nutrirse por sí misma (McKendrick, 2000). Siendo esto una limitante para el bajo índice de supervivencia de las semillas en la naturaleza. A pesar de la gran cantidad de semillas que producen las orquídeas, las especies silvestres son relativamente escasas debido a que sus semillas carecen de endospermo, lo que dificulta su germinación en condiciones naturales. Esta limitación ha impulsado el uso de métodos *in vitro* como una técnica eficaz para la preservación de especies amenazadas, lo que plantea desafíos importantes para su propagación. En este contexto, las técnicas de cultivo *in vitro* representan una herramienta viable para la multiplicación de especies de interés. Además, la recolección y reserva de germoplasma constituye una alternativa segura para la conservación *ex situ* de las orquídeas. (Salgado y Peñaranda, 2019).

Objetivo General:

Evaluar el efecto de los medios de cultivo empleados en la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe.

Objetivo Específico:

1. Determinar el medio de cultivo adecuado para la germinación de las semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe.
2. Determinar el medio de cultivo adecuado para formación de protocormos de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Antecedentes internacionales

Muñoz y Jiménez (2007), investigaron el desarrollo de la cápsula y la germinación *in vitro* de tres especies de *Phragmipedium*: *P. humboldtii*, *P. longifolium* y *P. pearcei*, comparando los medios de cultivos Knudson C y Murashige y Skoog al 50 % de su concentración de sales (MS al 50%). La evaluación se realizó inicialmente en oscuridad y posterior a ello a un fotoperiodo de 12 horas, corrigieron el porcentaje de germinación en relación a los resultados del porcentaje de viabilidad de las semillas. Los resultados evidenciaron una menor germinación en *P. humboldtii* (2,9 %) respecto a *P. longifolium* (41,3 %) y *P. pearcei* (38,7 %). Asimismo, el medio Knudson C favoreció el crecimiento de los protocormos, especialmente cuando las semillas permanecieron en oscuridad durante las primeras seis semanas de cultivo, observándose posteriormente la transición de color de blanco a verde tras su exposición a la luz.

En la investigación realizada por Lo et al. (2004) se optimizó un protocolo de germinación asimbiótica para *Dendrobium tosaense*, una especie de interés medicinal. Los resultados demostraron que tanto el medio MS al 100% como el MS al 50 % permitieron la germinación de las semillas, aunque la respuesta dependió del grado de madurez de las cápsulas y de la composición del medio de cultivo, evidenciando la importancia de estos factores a lo largo de las primeras etapas del desarrollo embrionario.

Cerna et al. (2016) establecieron protocolos para la propagación *in vitro* de *Epidendrum jamiesonis*, *E. schistochilum* y *Oncidium ornithorhynchum*, evaluando

diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA_3), ácido indolbutírico (IBA) y kinetina (Kin). Los resultados permitieron definir concentraciones óptimas de GA_3 para favorecer la germinación (0,1 mg/L en *Epidendrum* y 0,2 mg/L en *Oncidium*), además de identificar combinaciones adecuadas de auxinas y citoquininas para estimular el crecimiento radicular, foliar y la emisión de brotes. Los autores concluyeron que la aplicación conjunta de reguladores de crecimiento produjo mejores respuestas que su uso individual.

Manrique et al. (2008), evaluaron el efecto del ácido indolacético (AIA), el ácido giberélico (AG_3) y la kinetina sobre el desarrollo de protocormos de *Comporettia falcata* cultivados en medio Murashige y Skoog. Determinaron que el AIA, en concentraciones de 1 y 3 mg/L, promovió el aumento del tamaño de los protocormos, la elongación celular y el desarrollo del sistema radicular. De manera similar, el AG_3 favoreció el crecimiento embrionario, la elongación celular y la conservación del pigmento fotosintético. Además, evidenciaron un efecto sinérgico entre ambas fitohormonas, mientras que la kinetina mostró una respuesta menos favorable e incluso inhibió la elongación celular a concentraciones elevadas. Los autores concluyeron que la respuesta hormonal depende del estado de desarrollo del protocormo y de la interacción entre los reguladores de crecimiento.

Gonzales et al. (2024), desarrollaron un protocolo de germinación *in vitro* y formación de protocormos de *Epidendrum catillus*, comparando seis medios de cultivo con distintas combinaciones de sales minerales, ácido naftalenacético (ANA), ácido giberélico (AG_3) y agua de coco. Los resultados mostraron que los medios Knudson C, MS al 75 % y MS al 100 % suplementados con agua de coco, así como el medio MS al 100 % con 3,0 mg/L de AG_3 , promovieron los mayores porcentajes de germinación, resaltando la importancia de la composición nutricional y hormonal del medio de cultivo.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Galvez (2005), evaluó la germinación *in vitro* de *Phragmipedium kovachii* y describió las primeras etapas de su desarrollo. Observó que la germinación se inició aproximadamente a los 30 días después de la siembra, alcanzando un 25,4 %, mientras que la ruptura de la testa y el inicio de la formación de protocormos ocurrieron alrededor de los 60 días. Asimismo, reportó bajos niveles de

contaminación, atribuidos a un adecuado procedimiento de desinfección y manejo aséptico durante el establecimiento del cultivo.

Guzmán (2016), comparó la germinación de *Phragmipedium kovachii* en los medios Murashige y Skoog (MS), Robert y Ernst (RE) y Thomale (GD). Las semillas fueron sembradas bajo condiciones controladas de temperatura y humedad, obteniéndose el mayor porcentaje de germinación en el medio Robert y Ernst (52 %), mientras que Thomale y Murashige y Skoog alcanzaron 25 % y 23 %, respectivamente, evidenciando la influencia de la composición mineral del medio sobre el proceso germinativo.

Ruiz (2021), evaluó las etapas de la germinación hasta la formación de protocormos en especies de orquídeas del género *Phragmipedium*: *P. kovachii* y *P. besseae*, en diferentes medios de cultivo: Murashige y Skoog al 50%, MS al 50% + de jugo de piña, MS al 50% + 20% de agua de coco y Knudson C. *Phragmipedium kovachii*, obtuvo mejores resultados en el medio MS al 50% alcanzando un porcentaje de formación protocormos de 16,09%, a su vez obtuvo mayor influencia en la formación de protocormos de *Phragmipedium kovachii*. Sin embargo, *Phragmipedium besseae* no alcanzó formar protocormos en los cuatro medios de cultivo analizados.

2.2. MARCO CONCEPTUAL

2.2.1. Germinación

Es el proceso mediante el cual una semilla viable reinicia su actividad metabólica después de la imbibición. Activa las enzimas que movilizan las reservas almacenadas en los tejidos de las semillas. Permitiendo el crecimiento del embrión y el inicio del desarrollo de una nueva planta. (Hartmann et al., 2011).

2.2.2. Protocormos

Son estructuras globosas de células indiferenciadas, cubiertas generalmente por tricomas. Actúan como una etapa transitoria entre las semillas y la plántula, que aparecen durante la germinación de las semillas de orquídeas, dan origen posteriormente a las hojas verdaderas y el sistema radicular (Arditti y Ghani, 2000).

2.2.3. Propagación vegetal *in vitro*

Es una técnica de cultivo de tejidos vegetales que permite obtener nuevas plantas a partir de células, tejidos, órganos o explantes, aprovechando la capacidad de totipotencia celular. Este proceso se desarrolla bajo condiciones asépticas y

controladas de laboratorio, donde factores como la composición del medio de cultivo, la temperatura, la iluminación y la disponibilidad de nutrientes favorecen el crecimiento y desarrollo de individuos genéticamente similares a la planta de origen. (George et al., 2008).

2.2.4. Micropropagación

La micropropagación es una técnica de cultivo de tejidos vegetales que comprende la manipulación aséptica de células, tejidos, órganos o explantes en condiciones controladas de laboratorio. Su finalidad es la producción masiva de plantas a partir de material vegetal seleccionado, permitiendo obtener individuos genéticamente homogéneos derivados de una misma planta madre. Debido a estas características, constituye una de las aplicaciones más utilizadas del cultivo *in vitro*, ya que facilita la propagación rápida y uniforme de especies de interés agrícola, forestal y ornamental (Llanos, 2015).

2.2.5. Murashige y Skoog

Fue desarrollado por Toshio Murashige y Folke Skoog en 1962, constituye uno de los medios nutritivos más empleados en la propagación *in vitro* de especies vegetales. Su formulación incluye sales minerales esenciales, vitaminas y una fuente exógena de carbono, proporcionando los nutrientes requeridos para el crecimiento y la morfogénesis de los tejidos cultivados. Una de sus principales características es la alta concentración de nitrógeno disponible en forma de nitrato y amonio, lo que contribuye al desarrollo celular, la diferenciación de órganos y la regeneración de plantas en condiciones estériles. (Menezes et al., 2016).

2.2.6 Fitorreguladores

Son sustancias de origen sintético o derivadas de organismos animales, vegetales, fúngicos o bacterianos. Estos compuestos, estructural y funcionalmente similares a los fitorreguladores, desempeñan un papel fundamental en la modulación de los procesos bioquímicos que ocurren a nivel celular en las plantas. La biotecnología ha podido fabricar de manera industrial reguladores de crecimiento, supliendo el rol de los fitorreguladores que existen de manera natural. (Alcantara et al., 2019).

2.2.7. Ácido indol acético

El ácido indol 3 acético (AIA) es un promotor del crecimiento que puede favorecer la división y elongación celular *in vivo* a concentraciones tales como 0,01 $\mu\text{mol/L}$, también desempeña un papel relevante en la germinación *in vitro* de semillas y en el crecimiento inicial de plántulas en diversas especies vegetales (Alfárez et al., 2013).

2.2.8 Ácido giberélico

Es una giberelina de origen sintético, la única con valor comercial, estimulando la división y elongación celular y la ruptura de la dormancia en semillas. Importante porque induce a la rotura de la latencia, permitiendo la germinación y crecimiento del después de la imbibición, estimulando el crecimiento y desarrollo del embrión (Alfárez et al., 2013).

2.3. BASES TEÓRICAS

2.3.1. La orquídea

La familia Orchidaceae constituye uno de los grupos más diversos y evolucionados dentro de las angiospermas monocotiledóneas. Su principal característica morfológica es la flor, los órganos reproductivos masculino y femenino se encuentran fusionados formando la columna, además, uno de los tres pétalos se encuentra modificado en el labelo, generalmente de mayor tamaño y con formas y colores particulares que favorecen la atracción de los polinizadores. Sus semillas presentan un reducido tamaño y son numerosas en comparación con la mayoría de las otras angiospermas (Cameron, 2004). Son sobre todo epífitas que se desarrollan sobre los árboles, pero también se encuentran creciendo de forma terrestre y litófitas. Las orquídeas presentan una notable variabilidad en el tamaño de sus flores, las cuales pueden medir desde aproximadamente 2 mm, como en *Trizeuxis falcata*, hasta alcanzar cerca de 70 cm en *Phragmipedium caudatum*, considerada una de las especies con las flores más grandes de la familia. A pesar de esta amplia diversidad morfológica, todas las especies mantienen la organización floral típica que caracteriza a las orquídeas (MINAM, 2017b).

2.3.2. Distribución en el Perú

Dentro de la flora peruana, la familia Orchidaceae constituye uno de los grupos botánicos con mayor riqueza específica, con alrededor de 212 géneros y 3000 especies, si bien se calcula que el número verdadero oscilaría entre 2500 y 3500

especies. La mayor variedad de orquídeas se encuentra en ceja de selva, crecen en altitudes entre los 500 y 3600 m s.n.m. Una inferior variedad pertenece a la selva baja (correspondiente a 300 m s.n.m.) y la serranía entre los 2600 y 3600 m s.n.m. (SERFOR, 2020b). En la familia Orchidaceae, los géneros más diversos en taxones nativos son *Masdevallia* (98), *Maxillaria* (63) y *Epidendrum* (98), que fundamentalmente pertenecen de igual forma a linajes de otras partes de los Andes (MINAM, 2015).

2.3.3. Morfología de la orquídea

a. Flor

Las orquídeas poseen flores con simetría bilateral y, por lo general, son hermafroditas, ya que poseen simultáneamente órganos reproductivos masculinos y femeninos. Una característica distintiva de esta familia es la fusión del androceo y el gineceo en una sola estructura especializada denominada columna o ginostemo. Como ocurre en otras monocotiledóneas, las flores presentan una organización trímera, compuesta por dos verticilos florales: uno externo formado por tres sépalos y otro interno constituido por tres pétalos. Uno de estos pétalos se encuentra modificado en una estructura especializada llamada labelo, generalmente más distintivo que los demás segmentos florales debido a su tamaño, coloración y ornamentación. Asimismo, la gran mayoría posee una sola antera fértil, aunque algunos grupos pueden presentar dos o tres anteras funcionales. (Singer, 2009).

b. Inflorescencia

Suelen organizarse en inflorescencias, sin embargo, existen especies de una sola flor, como *Calipso bulbosa*. Presentan flores dispuestas de manera densa o laxa, cuya agrupación presenta forma cónica, cilíndrica u ovoide (WFO, 2023). Según la posición encima del raquis, la flor puede ser apical, axilar o basal (Freuler, 2008).

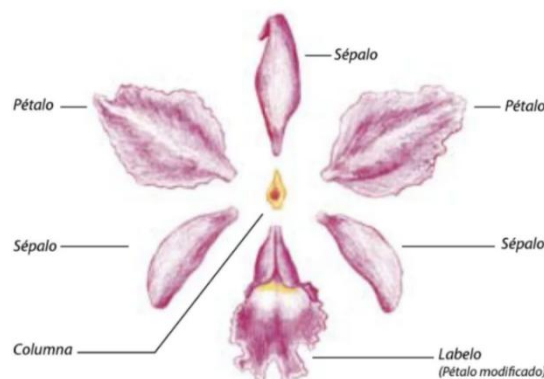


Figura 1. Estructura de una flor de orquídea (Freuler, 2008).

c. Tallo

El tallo es el órgano vegetal cuya función es proporcionar soporte a las hojas, flores y frutos. En las orquídeas, este órgano puede presentar diferentes modificaciones morfológicas clasificadas por Mechaca (2011) en tres tipos principales: tallos cilíndricos, pseudobulbos y cormos. Muchas de las orquídeas desarrollan tallos engrosados de morfología variable conocidos como pseudobulbos, que presenta diversidad en su forma. (Calaway, 2025)

d. Hojas

Se caracterizan por poseer venación paralela, rasgo común en las monocotiledóneas. No obstante, algunas especies pueden presentar patrones de venación reticulada. Los márgenes foliares suelen ser enteros. (MINAM, 2015). Generalmente, se distinguen tres tipos principales:

- **Hojas plegadas:** Presentan pliegues longitudinales a lo largo del limbo, lo que incrementa su superficie fotosintética; este tipo es frecuente en géneros terrestres como *Sobralia* y *Catasetum* (Dressler, 1993).
- **Hojas conduplicadas:** Por lo general, las hojas presentan venas de tamaño uniforme o una vena central principal. Las hojas suelen ser gruesas o coriáceas, con una apariencia similar al cuero.
- **Hojas cilíndricas o terete:** Son hojas alargadas y cilíndricas, como *Trichocentrum* sp.

La forma del limbo foliar también es variable entre especies, pudiendo ser ovalada, obovada, elíptica, lanceolada, oblonga, cordata, etc. (Freuler, 2008).

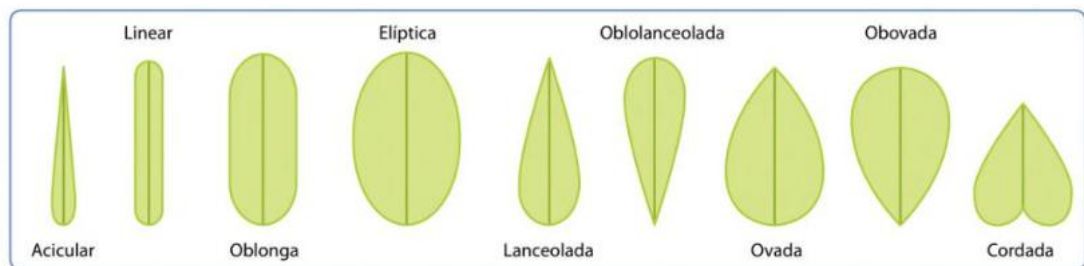


Figura 2. Tipos de hojas en orquídeas. (Freuler, 2008).

e. Raíces

Las orquídeas presentan raíces con adaptaciones estructurales que les permiten desarrollarse en diversos ambientes. Una de sus características más distintivas es la presencia del velamen, este tejido facilita la absorción de agua y nutrientes. La

morfología y estructura de las raíces varían en función del hábito de crecimiento de la planta. Las orquídeas epífitas poseen velamen, las litófitas y terrestres carecen de esta cubierta (Freuler, 2008).

f. Fruto

El fruto tipo cápsula, en ellas alberga las semillas que son muy pequeñas, Debido a sus reducidas dimensiones son conocidas como semillas polvo, no contienen reservas nutritivas lo que limita su capacidad germinación autónoma, la germinación ocurre por la existencia de hongos micorrícicos, los cuales suministran los nutrientes esenciales hasta que las plántulas desarrollan su capacidad fotosintética (MINAM, 2015). La germinación inicia con la formación y desarrollo de protocormos, en algunas especies esta etapa puede persistir desde semanas hasta varios años, finalmente, ocurre el desarrollo de la plántula con la diferenciación raíces y hojas (McKendrick, 2000).

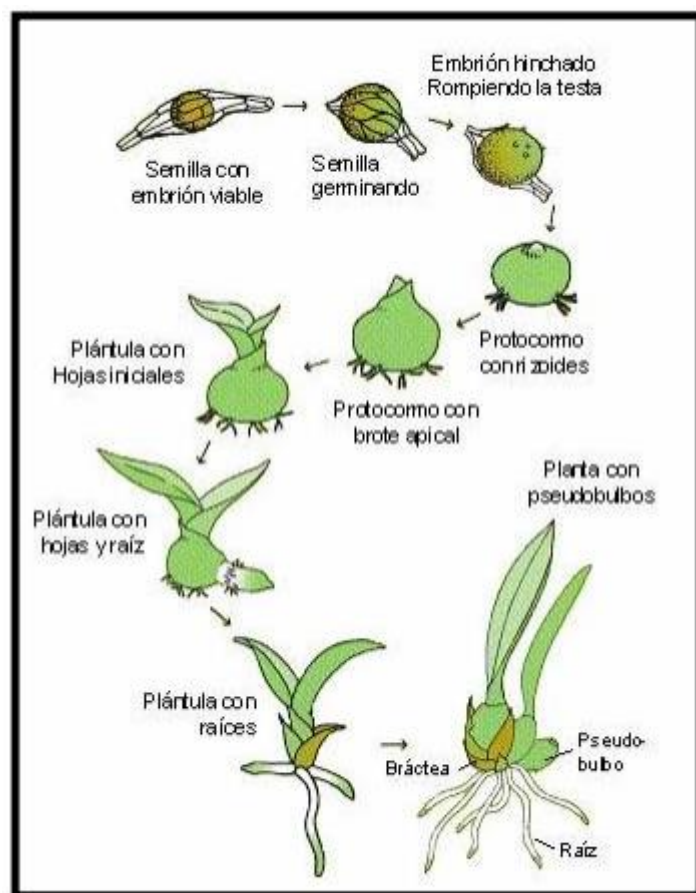


Figura 3. Proceso de germinación de semillas de orquídeas (Rodríguez, 2013)

2.3.4. *Phragmipedium caudatum*

Taxonomía

La especie fue descrita por primera vez por el botánico inglés John Lindley en 1840. Posteriormente, Robert Allen Rolfe realizó la transferencia al género actual *Phragmipedium* publicado en Orchid review, (1896); y es el siguiente:

Dominio	: Eukarya
Reyno	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Orden	: Asparagales
Familia	: Orchidaceae
Subfamilia	: Cypripedioideae
Tribu	: Phragmipediaceae
Género	: <i>Phragmipedium</i>
Especie	: <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe
Nombre común	: Zapatito de la reina

Especies del género *Phragmipedium* en Perú

De acuerdo con lo reportado por Galvez (2005), el Perú alberga diversas especies pertenecientes al género *Phragmipedium*, entre las cuales se encuentran: *Phragmipedium caudatum*, *Phragmipedium pearcei*, *Phragmipedium vitatum*, *Phragmipedium caricinum*, *Phragmipedium wallisii*, *Phragmipedium besseae*, *Phragmipedium richteri*, *Phragmipedium boissierianum* y *Phragmipedium kovachii*.

Características de la especie

Orquídea epífita de porte erguido, de un tallo corto formando una roseta basal compacta, hojas dísticas, coriáceas de borde entero y nervadura paralela. Inflorescencia tipo racimo de disposición predominantemente basal. La flor de color amarillo claro, teñidas de rosa malva con sépalos lanceoladas, floración en setiembre. Se diferencia de otras especies por la notable longitud de las caudas o

prolongaciones de sus pétalos, las cuales pueden alcanzar hasta 80 cm (MINAM, 2017b).

Se trata de una especie de habito principalmente terrestre, aunque presenta la capacidad de establecerse también sobre árboles o superficies rocosas. Su inflorescencia es tipo racimo y está constituida por aproximadamente 2 a 4 flores de aspecto llamativo, cuya superficie presenta una ligera pubescencia. Estas flores muestran una coloración predominantemente amarillo verdosa, acompañada de manchas de tonalidades café o púrpura, y poseen brácteas florales relativamente grandes. Los sépalos laterales se encuentran fusionados hasta su extremo superior, formando una estructura de contorno lanceolado y ápice acuminado, con dimensiones aproximadas de 8 a 13 cm de longitud y 3 a 4,5 cm de ancho. El sépalo dorsal puede alcanzar hasta 19 cm de longitud, presenta una tonalidad crema con nervaduras verdes o marrones y suele disponerse inclinado sobre el labelo. Los pétalos son más delgados que los sépalos y se prolongan en caudas largas y péndulas, que pueden alcanzar entre 60 y 70 cm. El labelo presenta una forma calceiforme, mide aproximadamente de 4 a 5 cm, es inflado y abierto, con los márgenes dirigidos hacia el interior y una superficie finamente piloso. Su coloración suele ser verdosa, con manchas rojizas o cafés. Finalmente, la columna es corta y presenta dos anteras fértiles dispuestas lateralmente, además de una antera estéril ubicada en la parte superior. (WFO, 2023).

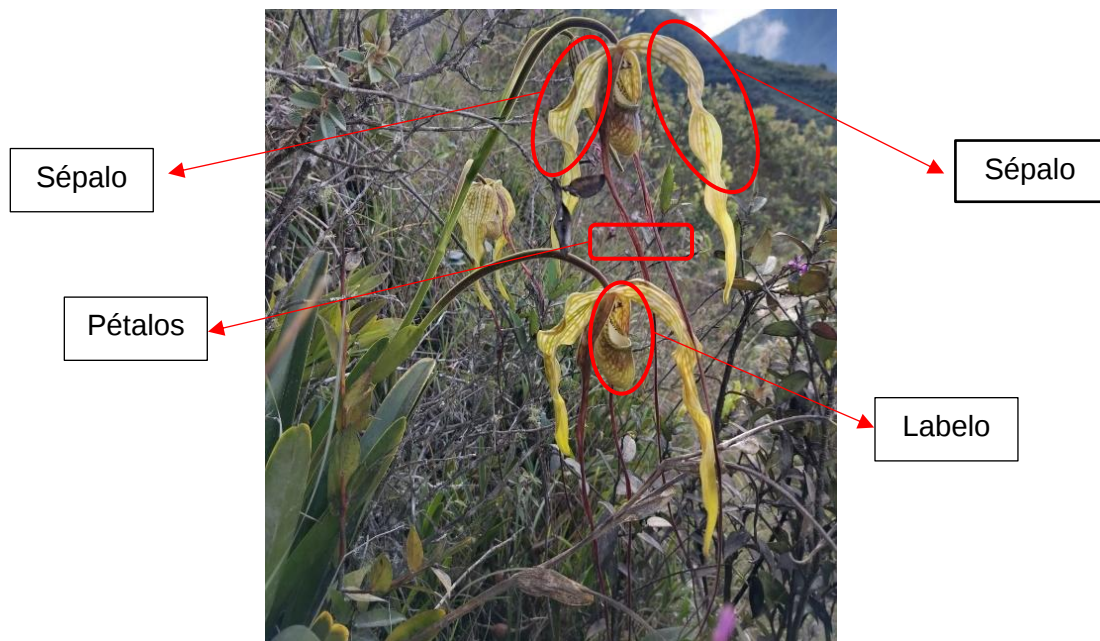


Figura 4. *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. Elaboración propia.

Distribución y hábitat

Se extiende desde el sur de México hasta Sudamérica, incluyendo los Andes peruanos, crecen a elevaciones de 1000 a 2500 m s.n.m. Se puede encontrar en diversos hábitats, tanto epífita como terrestre y crece por lo general bajo sombra. Florece de primavera hasta otoño (Goicochea, 2023). En el Perú ha sido reportada en los departamentos de Pasco (Oxapampa) Cusco, Junín, Huánuco y Puno (MINAM, 2015).

2.3.5. Propagación *in vitro* de orquídeas

El desarrollo de la propagación *in vitro* de orquídeas se consolidó a partir de las investigaciones realizadas por Knudson (1922), quien desarrolló por primera vez la germinación de semillas en medios de cultivos simples suplementados con azúcar. Este hallazgo sentó las bases para el establecimiento de técnicas de cultivo que posteriormente permitieron la multiplicación masiva de numerosas especies utilizando diferentes tipos de explantes, como semillas, segmentos foliares, nudos, ápices, rizomas, secciones apicales y plántulas procedentes de semillas germinadas *in vitro* (Sedano et al., 2015).

Arditti y Ernst (1993), sistematizaron metodologías de propagación para numerosas especies, destacando el uso de medios de cultivo como Murashige y Skoog (MS), Vacin y Went (VW) y Knudson C (KC), frecuentemente suplementados con compuestos orgánicos naturales como pulpa de plátano, agua de coco y caseína hidrolizada, los cuales favorecen el crecimiento y desarrollo de los tejidos. El cultivo *in vitro* de orquídeas *Phragmipedium* ha experimentado una importante evolución desde los primeros intentos en el año 1950, a pesar de ello, numerosas especies se han visto vulnerables por la exagerada depredación de sus hábitats naturales y la deforestación a gran escala (MINAM, 2017b).

2.3.6. Germinación *in vitro* de orquídeas

De acuerdo con Vargas (2012), la propagación masiva de orquídeas es posible mediante la germinación *in vitro* de semillas obtenidas a partir de cápsulas producidas por reproducción sexual. Este método permite generar un gran número de plántulas, las cuales presentan variabilidad genética debido a su origen sexual. La técnica consiste en sembrar las semillas en recipientes estériles que contienen un medio de cultivo formulado con los nutrientes necesarios para favorecer la germinación y el desarrollo de las plántulas. La germinación *in vitro* puede realizarse mediante dos enfoques. El primero corresponde a la germinación simbiótica, en la

que las semillas se cultivan en asociación con hongos micorrícicos capaces de suministrar los nutrientes requeridos durante las etapas iniciales del desarrollo. El segundo corresponde a la germinación asimbiótica, donde las semillas se desarrollan en ausencia del hongo y dependen exclusivamente de los nutrientes incorporados al medio de cultivo. Debido a la falta de esta asociación simbiótica, los medios utilizados en la germinación asimbiótica deben proporcionar las condiciones nutricionales adecuadas para garantizar el crecimiento del embrión y la posterior formación del protocormo.

2.3.7. Medio de cultivo y componentes del medio

- **Fuente de Carbono:** En los medios de cultivo es indispensable incluir una fuente de carbono. La sacarosa es el carbohidrato más utilizado, generalmente en concentraciones de 20 a 30 g/L, ya que proporciona la energía necesaria para el crecimiento y desarrollo de los explantes durante las primeras etapas. Su función es especialmente importante hasta que las plántulas desarrollan clorofila y adquieren una mayor capacidad fotosintética. (Menezes et al., 2016).
- **Macronutrientes:** Los nutrientes minerales constituyen componentes indispensables de los medios de cultivo, ya que participan en numerosos procesos fisiológicos relacionados con el crecimiento y desarrollo vegetal. Resalta las concentraciones prominentes de nitrógeno y potasio, el nitrógeno es suministrado en forma de nitrato o amonio, el hierro debe ser incorporado con un agente quelante, en otras palabras, la sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (Na_2EDTA).
- **Micronutrientes:** Requeridos en pequeñas cantidades, ellas incluyen manganeso, zinc, cobre, boro, molibdeno.
- **Agentes Gelificantes:** Proporcionan soporte físico al explante, se adiciona entre 0,6 - 1%. El más utilizado es el agar-agar, que se obtiene a partir de diversas especies de algas rojas.
- **pH:** Es un factor fundamental en la preparación de medios de cultivo, influye directamente en la disponibilidad y absorción de nutrientes para el crecimiento de tejidos vegetales. El pH se suele ajustar a 5,6 por tanto si se encuentra muy alcalino debe ser ajustado con unas gotas de ácido clorhídrico, ácido nítrico o sulfúrico; caso contrario si el medio está muy ácido se emplea soluciones alcalinas como el hidróxido de amonio, hidróxido de potasio.

2.3.8. Medios de cultivo para la germinación de orquídeas

La germinación *in vitro* de orquídeas depende en gran medida del medio de cultivo Galvez (2005), reportó que las semillas de *Phragmipedium kovachii* establecidas en este medio iniciaron la germinación aproximadamente a los 30 días después de la siembra, mientras que la ruptura de la testa y el inicio de la formación de protocormos ocurrieron alrededor de los 60 días, alcanzando un porcentaje de germinación de 25,4 %. De manera similar Ruiz (2021), observó que el medio MS al 50 % favoreció significativamente la germinación de *Phragmipedium kovachii*, registrando porcentajes de hasta 60,48 %, además de promover el desarrollo posterior de protocormos y plántulas.

Fitorreguladores

En el contexto del crecimiento y desarrollo vegetal, las hormonas desempeñan funciones específicas, actuando a nivel fisiológico en concentraciones bajas (Gil et al., 2016). Los fitorreguladores pueden clasificarse con base en su estructura molecular, su función fisiológica, su efecto estimulante o inhibitorio sobre los procesos del desarrollo, entre más criterios. Los más comúnmente empleados en la actualidad son los pertenecientes a las familias de las auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico, ácido salicílico, etc. Diversos estudios han demostrado que tanto las auxinas como las citoquininas pueden interactuar de manera sinérgica o antagonista en la regulación de múltiples procesos del desarrollo, incluyendo la formación y el mantenimiento de los meristemos.

Auxinas

Es una de las fitohormonas vegetales más importantes, con importante función en la regulación de diversos procesos fisiológicos, se sintetiza en las yemas apicales de los tallos y pasa desde allí hasta otras partes de la planta, donde puede tanto estimular el crecimiento como inhibirlo (Barrionuevo, 2011).

Actúa a nivel celular, su acción influye directamente en la formación de tejidos y órganos, especialmente raíces, brotes y estructuras meristemáticas, por lo que desempeñan un papel fundamental en los sistemas de cultivo *in vitro*. Debido a su capacidad para dirigir la morfogénesis y el desarrollo de los explantes, son consideradas hormonas clave en los procesos de regeneración vegetal. (Alcantara, et al., 2019). Entre las auxinas más importantes se encuentra el ácido indol-3-acético (AIA), principal auxina natural, además de compuestos sintéticos como el ácido

indolbutírico (IBA), el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y el ácido α -naftalenacético (NAA), ampliamente utilizados en micropropagación y cultivo de tejidos vegetales.

Entre los efectos fisiológicos de las auxinas se puede mencionar a los siguientes.

Crecimiento y formación de raíces. Intervienen activamente en la regulación de la morfogénesis radicular, controlando la división, elongación y diferenciación celular involucradas en la formación de raíces. Su acción varía según el tejido y la concentración presente; mientras promueven el crecimiento de órganos aéreos como tallos y coleóptilos, pueden limitar la elongación de la raíz primaria (Jordán y Casaretto, 2006).

Dominancia apical. Tiene una distribución en forma de gradiente de auxina, que va desde el ápice principal hacia la base de la planta, esto inhibe el crecimiento de los brotes auxiliares laterales a lo largo del tallo, lo que permite mantener el fenómeno conocido como dominancia apical.

Favorece el desarrollo de flores y frutos. Se ha comprobado que en las plantas con mutaciones que afectan el transporte de auxinas, presentan alteraciones en la morfología de las inflorescencias y en la arquitectura de la flor, esto indica que esta hormona es esencial para el desarrollo adecuado de las flores. De igual manera, la aplicación exógena de auxina ha demostrado inducir la formación floral en diversas especies. Además, la auxina participa activamente en el crecimiento y desarrollo normal de los frutos (Jordán y Casaretto, 2006).

Mecanismo de acción. Estimulan el crecimiento vegetal principalmente al favorecer la expansión celular. Esto se debe a que activan la bomba de protones (H^+ -ATPasas) ubicada en la membrana plasmática mediante dos vías: por un lado, potenciando las bombas ya presentes, y por otro, induciendo la síntesis de nuevas bombas. La acción de estas bombas incrementa la concentración de protones en la pared celular, que a su vez provoca una disminución del pH (acidificación). Este cambio de ambiente ácido activa proteínas que son capaces de debilitar los enlaces de hidrogeno de los componentes de la pared celular. Los principales mediadores de este proceso son las expansinas, proteínas asociadas a la pared, ya que aumentan la plasticidad celular al facilitar la expansión de la pared. (Jordán y Casaretto, 2006)

El ácido indol-3-acético (AIA) es la auxina más importante, promueve el alargamiento y la división celular, se considera indispensable también para la

germinación *in vitro* de semillas y crecimiento de explantes en algunas especies de plantas (Alfárez et al., 2013).

Giberelinas

Son compuestos que influyen en variedad de procesos del desarrollo de las plantas. Son conocidas por estimular la hiperelongación del tallo, movilizar reservas del endospermo durante el crecimiento del embrión, expansión de la hoja. También son importantes para la estimulación del crecimiento del embrión y germinación de semillas promoviendo la rotura de la estructura alrededor del embrión (Cerna et al., 2016). Solo algunas poseen actividad biológica significativa en las plantas, de las 112 giberelinas que se han identificado.

La biosíntesis de las giberelinas tiene lugar en diversos órganos de la planta, con excepción del caso particular de las semillas de cereales. Durante las primeras etapas del desarrollo vegetal, las mayores concentraciones de estas fitohormonas suelen encontrarse en hojas jóvenes y yemas en crecimiento activo. En plantas adultas, su presencia se registra principalmente en los frutos y, en menor medida, en el sistema radicular. Sin embargo, la distribución de las giberelinas biológicamente activas no siempre coincide con los sitios donde se inicia su biosíntesis. Diversos intermediarios de las giberelinas son transportados a través del floema hacia distintos órganos diana, donde se convertirán en formas activas. Diversos factores ambientales como la duración del fotoperiodo y la exposición a bajas temperaturas cumplen un papel clave en la activación de estos intermediarios, facilitando su conversión en moléculas funcionalmente activas (Jordán y Casaretto, 2006).

Entre las giberelinas el ácido giberélico (AG_3), regula la germinación, el crecimiento del tallo y el desarrollo de frutos (Rademacher, 2016).

2.4. MARCO LEGAL

El Estado peruano se encuentra regulando a través de diversas estrategias, políticas públicas, normativas, planes y programas nacionales enfocados en la conservación, el uso racional y el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales, entre los que destacan las orquídeas, estos reglamentos rigen el uso sostenible de los recursos biológicos, la investigación científica con material genético vegetal y la conservación de especies nativas. En este contexto el Estado, a través de sus respectivos ministerios, han intensificado la regulación del tráfico ilegal de flora

silvestre, muchas de las cuales se encuentran actualmente en situación de amenaza o peligro de extinción (MINAM, 2018).

Ley N° 29763 – Ley Forestal y de Fauna Silvestre.

Promueve la conservación, protección, incremento y uso sostenible del patrimonio forestal y de fauna silvestre en todo el territorio nacional, establece que tales recursos constituyen un patrimonio nacional, sujeto a un enfoque de gestión adaptativa, mejora continua, y armonía con intereses ambientales, económicos y sociales, así mismo también menciona “El Estado promueve la investigación científica dentro de las áreas de los títulos habilitantes. Toda investigación que implique colecta y/o captura temporal de material biológico con fines científicos debe contar con la autorización otorgada por la autoridad correspondiente. Dichas autorizaciones no requieren el pago de derecho de trámite” (SERFOR, 2015).

Ley N° 28216 – Ley de Protección al Acceso a la Diversidad Biológica Peruana y al Conocimiento Colectivo de los Pueblos Indígenas.

Esta norma regula el acceso a los recursos genéticos y salvaguarda los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas relacionados con la biodiversidad. Establece que cualquier investigación que involucre recursos genéticos debe contar con autorización del Estado y contempla mecanismos de distribución justa de los beneficios derivados de su uso (MINAM, 2017).

Decreto Supremo N° 003-2009-MINAM. Reglamento de Acceso a Recursos Genéticos.

Este reglamento desarrolla los procedimientos administrativos necesarios para el acceso legal a recursos genéticos. Las investigaciones científicas que incluyan la propagación o manipulación de especies nativas mediante técnicas como el cultivo *in vitro* deben contar con las autorizaciones correspondientes, garantizando el respeto a la legislación de biodiversidad (MINAM, 2009).

Plan Nacional de Conservación de las Orquídeas Amenazadas del Perú 2020 - 2029.

El Estado peruano lo aprobó, mediante la Resolución de Dirección Ejecutiva N° D000108-2020-MINAGRI-SERFOR-DE, con el objetivo de conservar y recuperar las poblaciones de orquídeas amenazadas y sus hábitats. Este instrumento establece lineamientos para la investigación, conservación, educación ambiental, control del

comercio ilegal y aprovechamiento sostenible de las orquídeas, contribuyendo al cumplimiento de la Estrategia Nacional de Diversidad Biológica y a los compromisos internacionales asumidos por el Perú en materia de conservación de la biodiversidad.

Apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES).

La inclusión en el Apéndice I implica que el comercio internacional de especímenes de origen silvestre está prohibido con fines comerciales, permitiéndose únicamente en circunstancias excepcionales, como fines científicos o de conservación, y bajo un sistema riguroso de permisos. Asimismo, el comercio de ejemplares propagados artificialmente está permitido, siempre que cumpla con las regulaciones establecidas por la Convención y las autoridades administrativas correspondientes. En el contexto nacional, el Perú, como país signatario de CITES, ha adoptado medidas para la protección de especies de flora silvestre, incluyendo orquídeas, mediante normativas que regulan su aprovechamiento, comercialización y conservación, en concordancia con los compromisos internacionales asumidos (CITES, 2023).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación Política

La recolección de la muestra se realizó en el Centro Poblado de Toccate, distrito Anco, provincia La Mar. Mientras que la etapa experimental se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Tabla 1. Ubicación política del Centro Poblado de Toccate y Laboratorio de Biotecnología Vegetal.

Etapa	Ubicación	Distrito	Provincia	Región
Campo	Centro poblado de Toccate	Anco	La Mar	Ayacucho
Laboratorio	Laboratorio de Biotecnología	Ayacucho	Huamanga	Ayacucho

3.2. Ubicación geográfica

Tabla 2. Ubicación geográfica del Centro Poblado Toccate y del Laboratorio de Biotecnología Vegetal.

Localidades	Coordenadas WGS 84 – zona 18L		
	Este (m)	Sur (m)	Altitud (m s.n.m.)
Toccate	644077,98	8560552,69	2500
Laboratorio de Biotecnología	584431,78	8546264,78	2788

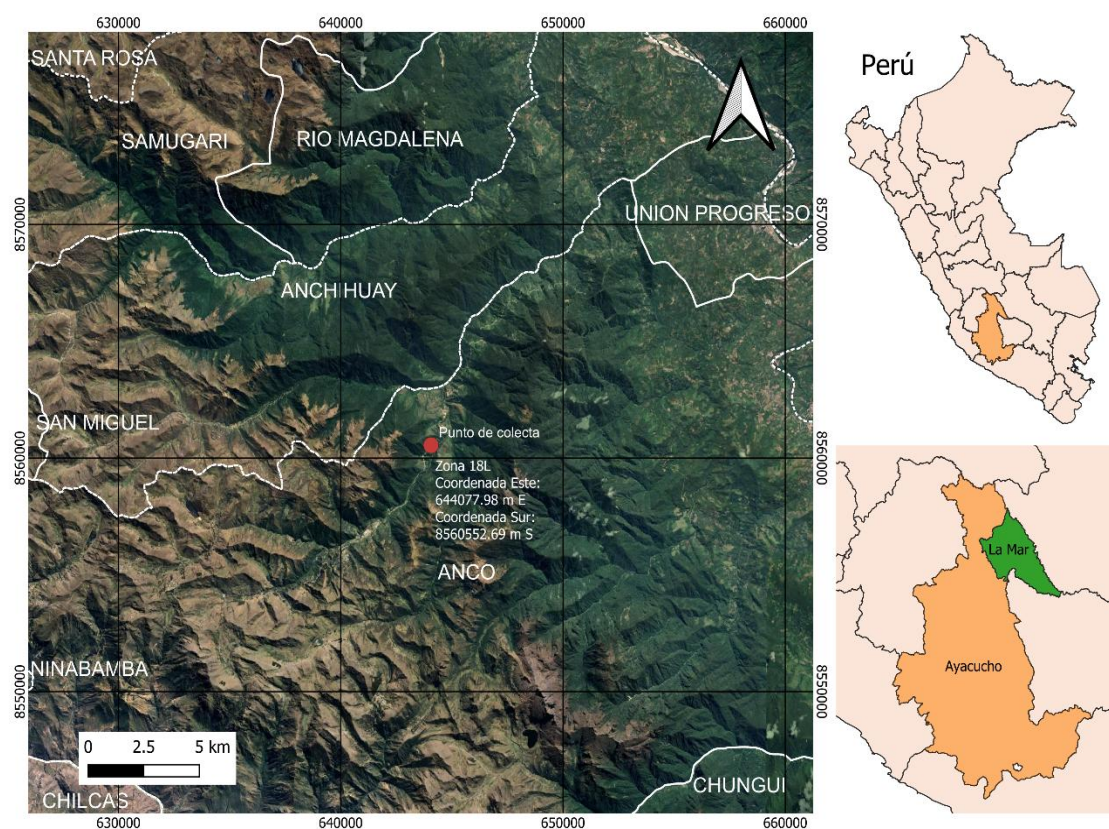


Figura 5. Mapa de ubicación geográfica del punto de muestreo en la localidad de Toccate.

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

Semillas de orquídeas procedentes de una cápsula de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe del Centro Poblado de Toccate, Anco, La Mar.

3.3.2. Muestra

La muestra estuvo conformada por una suspensión de semillas obtenida al diluir 1 cm³ de las semillas en 40 mL de agua destilada estéril.

3.4. Tipo de investigación

Investigación básica experimental.

3.5. Metodología y recolección de datos

3.5.1. Recolección y selección de material vegetal

Colecta de muestra

La colecta se realizó en febrero del 2025. Las semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe fueron obtenidas a partir de cápsulas maduras, colectadas del Centro Poblado de Toccate, distrito de Anco, provincia La Mar. Para diferenciar las cápsulas maduras de las inmaduras se empleó como criterio el cambio progresivo de color, desde el verde característico de las cápsulas inmaduras hasta tonalidades amarillas y marrones asociadas al proceso de maduración (Kitsaki et al., 2004). Una vez obtenidas las cápsulas, se colocaron en un papel bond limpio y dentro de una bolsa de ziplock, anotándose los siguientes datos: colector, lugar, coordenadas, altitud. Una vez realizada la colecta se llevó al laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, para la investigación.

Se realizó una segunda colecta en julio del 2025, donde se extrajo la planta completa (raíz, tallo, e inflorescencia), y se prensó para su posterior identificación (Sánchez y González, 2007).

3.5.2. Preparación de los medios de cultivo

Se utilizó como medio de cultivo base el medio Murashige y Skoog (MS) (Anexo 4). Para la preparación, se establecieron dos concentraciones: MS al 100% y MS al 50%. En el caso del medio al 100%, se pesaron 4,3 g/L de sales MS y 30 g/L de sacarosa; mientras que, para el medio al 50%, se emplearon 2,15 g/L de sales MS, manteniendo constante la concentración de sacarosa. Luego se ajustó el pH a 5,6 empleando soluciones de 1,0 N de NaOH y 1,0 N de HCl, se agregó 7 g/L de agar-agar. Luego se adicionó los fitorreguladores, se utilizó ácido indolacético (AIA) y ácido giberélico (AG₃) Tabla 3.

El medio se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 120 °C y 1 atm de presión. De igual forma se procedió con la esterilización del resto de materiales como placas de Petri, pinzas, porta bisturís, etc.

Tabla 3. Diseño experimental para la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, con fotoperiodo 16h luz/8h oscuridad a $22^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$

Tratamientos	Murashige y Skook MS (%)	AIA (ppm)	AG ₃ (ppm)	Repeticiones
T1	100	0,5	1,0	I, II, III, IV, V
T2	100	0,5	1,5	I, II, III, IV, V
T3	100	1,0	1,0	I, II, III, IV, V
T4	100	1,0	1,5	I, II, III, IV, V
T5	50	0,5	1,0	I, II, III, IV, V
T6	50	0,5	1,5	I, II, III, IV, V
T7	50	1,0	1,0	I, II, III, IV, V
T8	50	1,0	1,5	I, II, III, IV, V

AIA: ácido indolacético, AG₃: ácido giberélico, T1: Tratamiento 1, T2: Tratamiento 2, T3: Tratamiento 3, T4: Tratamiento 4, T5: Tratamiento 5, T6: Tratamiento 6, T7: Tratamiento 7, T8: Tratamiento 8,

3.5.3. Desinfección de las semillas, y siembra en los medios de cultivo

Desinfección de la cápsula

Se usó el protocolo de Gonzales et al. (2024) para la desinfección. En primer lugar, se lavó con solución jabonosa antibacterial (100 ml/L) por 5 minutos, pasado el tiempo la capsula se sumergió en agua destilada estéril para eliminar restos de jabón. Luego, en una solución de hipoclorito al 3%, se sumergió la cápsula 10 min. Posterior a ello se llevó a la cámara de flujo laminar y se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril. Por último, la cápsula se sumergió en alcohol al 70% por 10 min y se volvió a realizar los enjuagues con agua destilada estéril.

Desinfección de las semillas

Se llevó a cabo mediante el método de la jeringa, utilizado por Galvez (2005). Inicialmente, las cápsulas fueron abiertas mediante cortes longitudinales con un bisturí N° 21 sobre una placa de Petri, y las semillas fueron extraídas con una espátula estéril. Posteriormente se utilizó una jeringa de 20 mL, en cuyo interior se colocó un algodón envuelto en un filtro de tela bien compactado. Las semillas se depositaron sobre el algodón dentro de la jeringa. A continuación, se preparó una solución de hipoclorito al 0,5 %. La cual fue absorbida con la jeringa y mantenida en contacto con las semillas durante 5 minutos, con agitación constante. Luego la solución fue eliminada y se repitió el procedimiento utilizando alcohol al 70% durante

10 minutos, posteriormente se enjuagó con agua destilada estéril. Finalmente, se expulsó el exceso de líquido del último enjuague y el algodón con las semillas fue retirado con una pinza esterilizada.

3.5.4. Siembra de las semillas

Se utilizó la metodología de Billard y Dalzotto (2014). Las semillas previamente desinfectadas se suspendieron en 40 mL de agua destilada estéril, homogenizando la solución. Posteriormente, en condiciones asépticas se procedió a la siembra en las placas con los medios de cultivo. Para ello, se utilizó una jeringa tipo tuberculina sin algodón, con la cual se extrajo 1 mL de la suspensión de semillas, y se distribuyó de manera pareja sobre la superficie del medio. Una vez realizada la siembra, las placas fueron selladas con plástico film, etiquetadas y trasladadas al cuarto de cultivo, en el cual se mantuvo bajo un fotoperiodo a 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, una temperatura de 22 ± 2 °C y 65% de humedad relativa.

3.6. Recolección de datos

Las placas Petri, con diferentes concentraciones del medio Murashige y Skoog, suplementado con ácido indolacético (AIA) y ácido giberélico (AG_3), constituyeron la unidad experimental, para evaluar la germinación y formación de protocormos.

Para la evaluación de las variables, se delimitaron tres cuadrantes de $0,5 \times 0,5$ cm en la parte posterior externa de la placa. Las observaciones se realizaron por cuadrícula utilizando un estereoscopio.

Se contabilizaron los días transcurridos desde la siembra y, mediante el uso de un estereoscopio, se registró el número total de semillas presentes en el cuadrante de evaluación, así como aquellas germinadas y las que alcanzaron la formación de protocormos. Se consideró como germinación a las semillas que presentaron hinchamiento del embrión y ruptura de la testa (Galvez, 2005; Ruiz, 2021). Por otro lado, la formación de protocormos se definió por la presencia de estructuras globosas derivadas del embrión germinado, con aumento del tamaño celular y diferenciación inicial del tejido protocórmico (Gonzales et al., 2024). Las evaluaciones se realizaron a los 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 y 90 días después de la siembra (Ruiz, 2021).

Cada tratamiento contó con cinco repeticiones, sumando un total de 40 unidades experimentales, donde cada placa correspondió a una repetición.

3.7. Análisis de los datos

Los datos fueron obtenidos en laboratorio, para lo cual se empleó el diseño completamente aleatorizado (DCA) con arreglo factorial 2^3 .

En el diseño experimental se empleó tres factores:

- Factor A: Sales de MS, a concentraciones de 100 y 50 %.
- Factor B: Ácido indolacético (AIA), a concentraciones de 0,5 y 1,0 ppm.
- Factor C: Ácido giberélico (AG_3), a concentraciones de 1,0 y 1,5 ppm.

La combinación de los niveles de los factores permitió establecer ocho tratamientos, y se realizó 5 repeticiones por cada tratamiento.

El modelo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + (\alpha\beta\delta)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde

Y_{ijk} : Respuesta observada.

μ : la media general.

α_i : Efecto de concentración de las sales de MS en el i-ésimo nivel.

β_j : Efecto de los niveles del AIA en el j-ésimo nivel.

δ_k : Efecto de los niveles del AG_3 en el k-ésimo nivel.

$(\alpha\beta\delta)_{ijk}$: Efecto de la interacción en el i-ésimo nivel, j-ésimo nivel y k-ésimo nivel.

ε_{ijk} : Error experimental.

Los datos se registraron en la hoja de cálculo de Excel, luego se procesaron y se obtuvo estadísticos descriptivos. Para analizar el efecto de los tratamientos se empleó el análisis de varianza (ANVA), y la comparación entre los promedios de cada tratamiento se realizó con la prueba Tukey ($\alpha=0,05$). Para realizar el análisis estadístico se utilizó el lenguaje de programación Minitab versión 4.2.2 (R CoreTeam, 2020).

IV. RESULTADOS

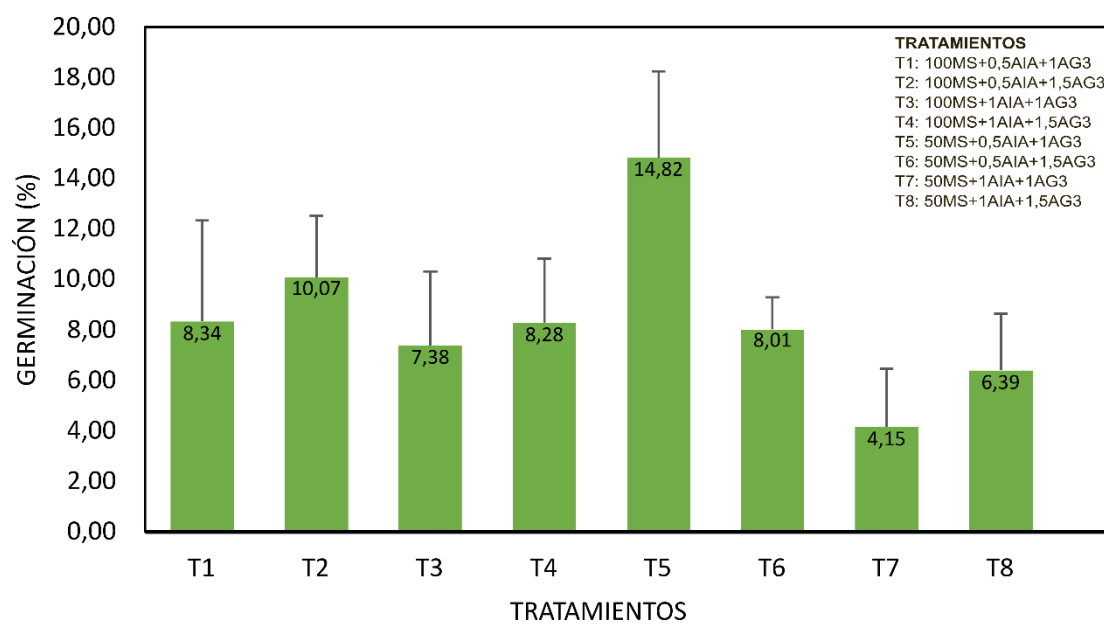


Figura 6. Germinación *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe a los 70 días después de la siembra ($\bar{x} \pm EE$), Ayacucho 2026.

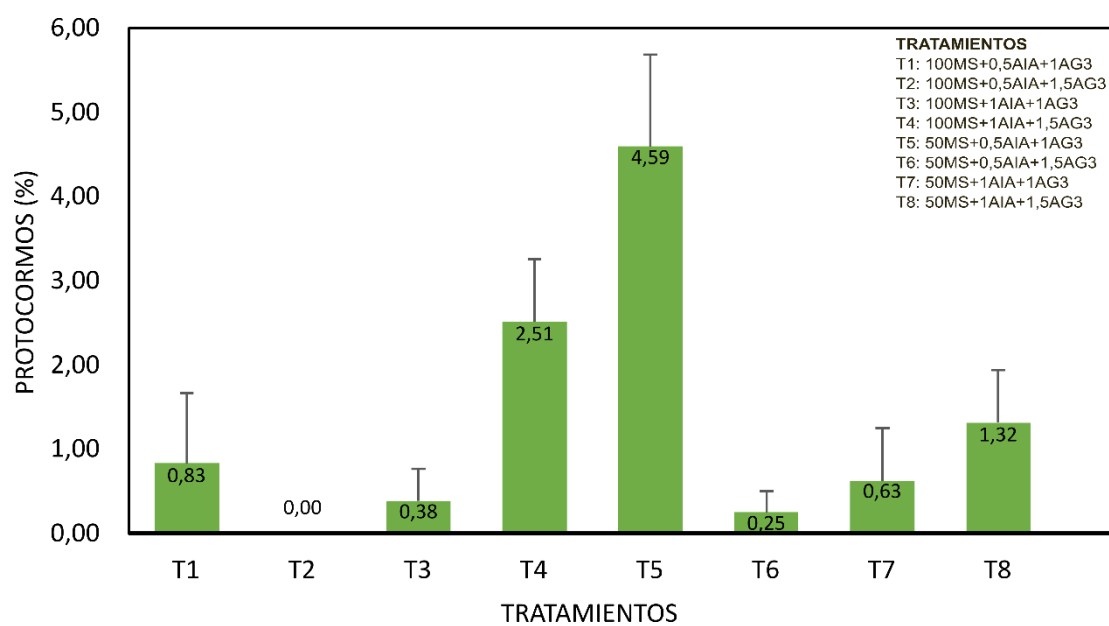


Figura 7. Formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe a los 70 días después de la siembra ($\bar{x} \pm EE$), Ayacucho 2026.

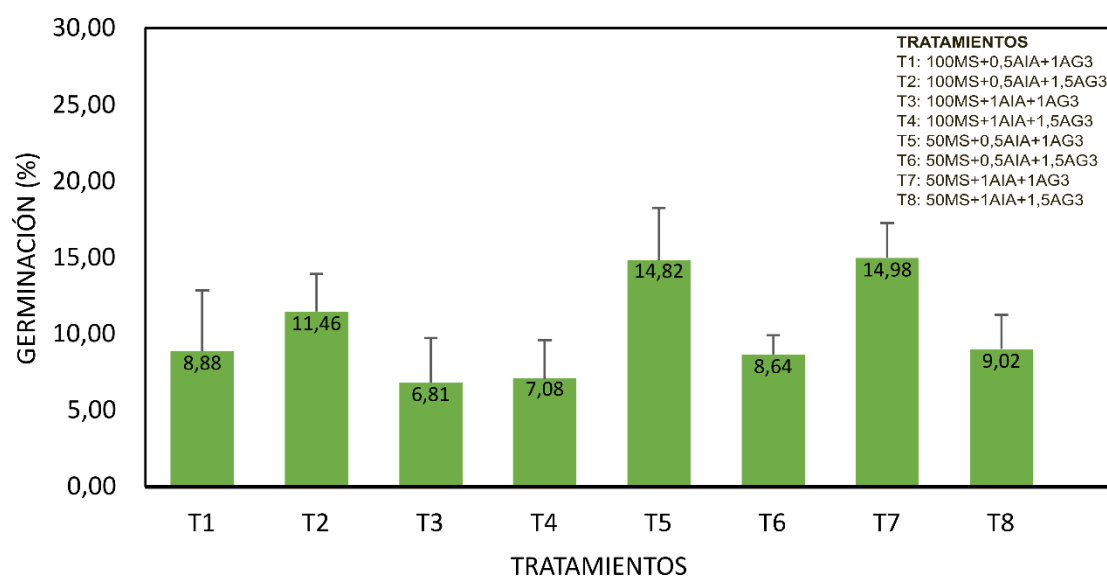


Figura 8. Germinación *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe a 90 días después de la siembra ($\bar{x} \pm EE$), Ayacucho 2026.

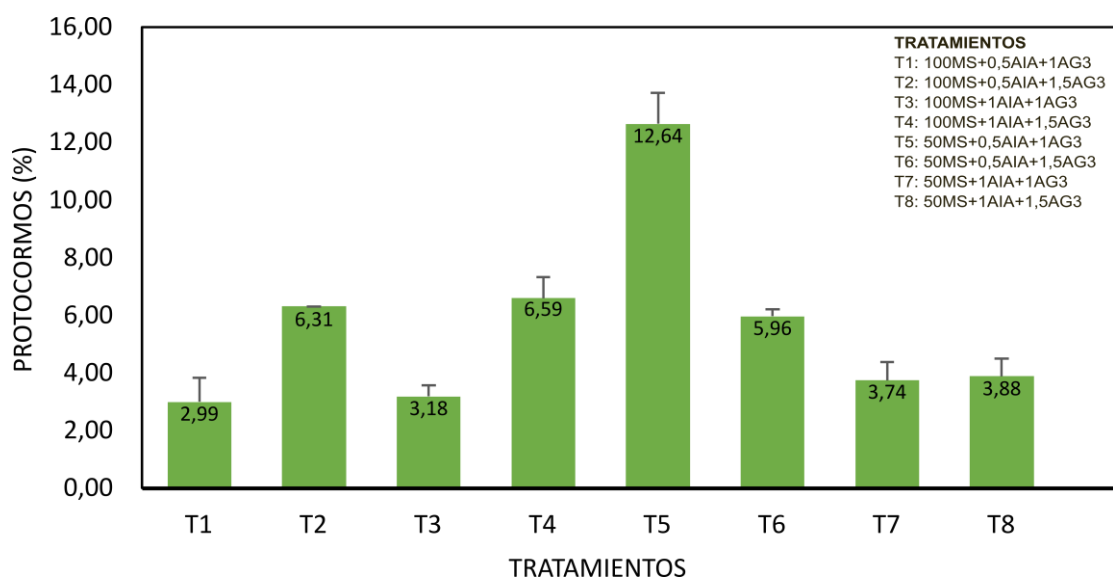


Figura 9. Formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe a 90 días después de la siembra ($\bar{x} \pm EE$), Ayacucho 2026.

Tabla 4. Análisis de varianza de la germinación *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC	Valor p
MS	1	0,30	0,930
AIA	1	141,21	0,062
AG ₃	1	2,35	0,805
MS*AIA	1	56,87	0,229
MS*AG ₃	1	32,50	0,361
AIA*AG ₃	1	42,29	0,299
MS*AIA*AG ₃	1	61,01	0,213
Error	32	121,82	
Total	39	1548,36	

GL: Grados de libertad

SC: Suma de cuadrados

MS: Murashige y Skoog

AIA: ácido indolacético

AG₃: AG₃: ácido giberélico

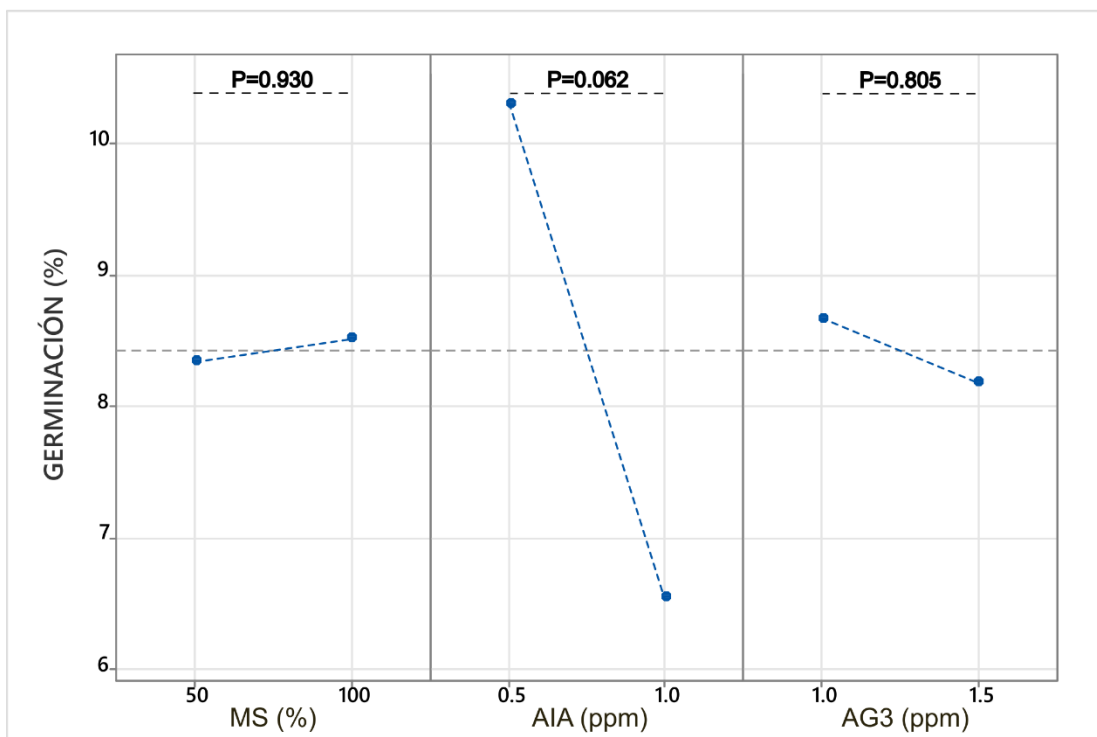


Figura 10. Efectos principales del medio MS, AIA y AG₃ en la germinación *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra, Ayacucho 2026.

No se observaron diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los niveles de los factores principales (MS, AIA y AG₃), en la germinación *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

Tabla 5. Análisis de varianza para la formación de protocormos *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC Ajust.	Valor p
MS	1	5,840	0,108
AIA	1	0,442	0,652
AG ₃	1	3,483	0,211
MS*AIA	1	15,409	0,011
MS*AG ₃	1	15,290	0,012
AIA*AG ₃	1	39,949	0,000
MS*AIA*AG ₃	1	2,694	0,270
Error	32	68,518	
Total	39	151,626	

GL: Grados de libertad

SC: Suma de cuadrados

MS: Murashige y Skoog

AIA: ácido indolacético

AG₃: ácido giberélico

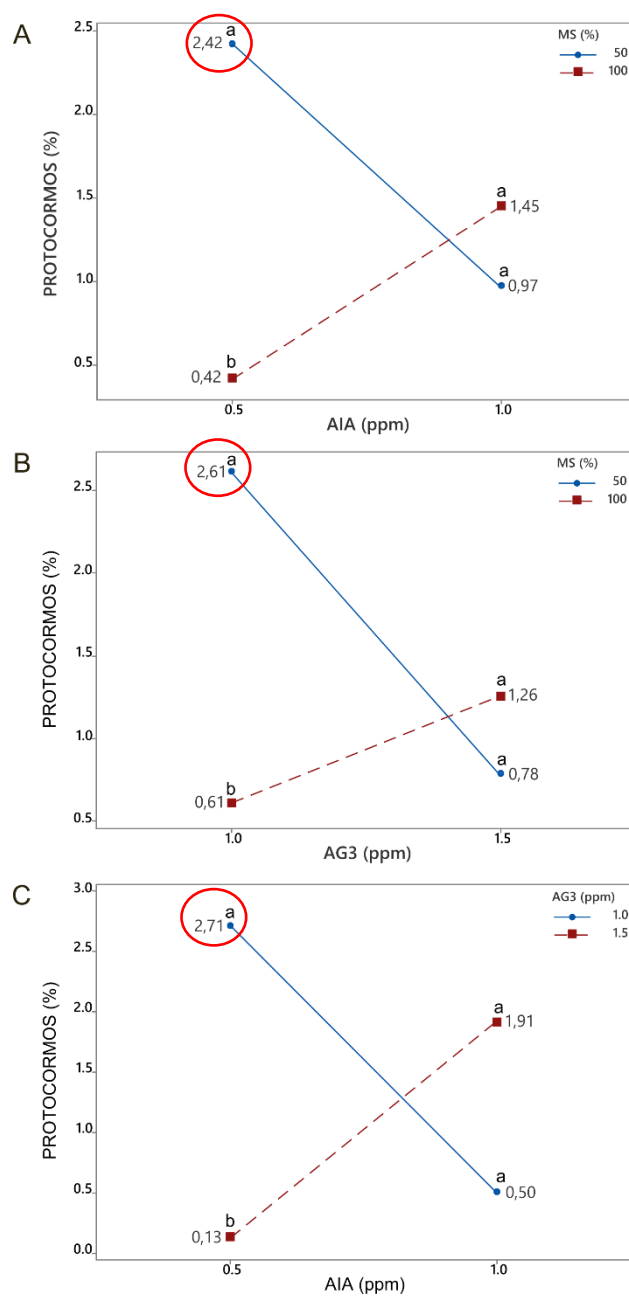


Figura 11. Evaluación Tukey ($p < 0.05$) en (A) interacciones de AIA*MS, (B) interacción de AG₃*MS, (C) interacción de AIA*AG₃, para la formación de protocormos (porcentaje) *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

Las letras (a, b,) indican diferencias estadísticas según el Test de Tukey ($p < 0,05$). La interacción AIA en su nivel 0,5 con MS en su nivel 50, representa la media más alta del porcentaje de formación de protocormos, asociado a la mejor interacción de los factores.

Tabla 6. Análisis de varianza de la germinación *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC Ajust.	Valor p
MS	1	109,28	0,084
AIA	1	21,88	0,431
AG ₃	1	53,91	0,220
MS*AIA	1	30,40	0,355
MS*AG ₃	1	140,42	0,052
AIA*AG ₃	1	2,76	0,779
MS*AIA*AG ₃	1	4,01	0,735
Error	32	1102,22	
Total	39	1464,88	

GL: Grados de libertad
SC: Suma de cuadrados
MS: Murashige y Skoog
AIA: ácido indolacético
AG₃: ácido giberélico

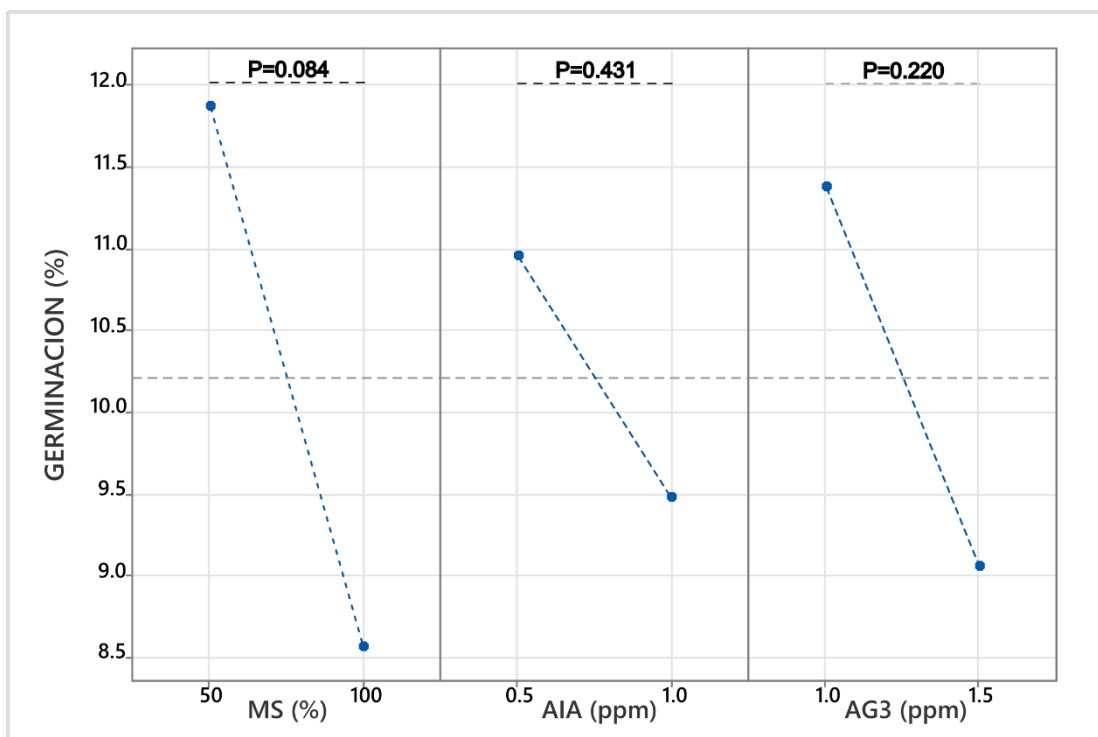


Figura 12. Efectos principales del medio MS, AIA y AG₃ en la germinación *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra, Ayacucho 2026.

No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los niveles de los factores MS, AIA y AG₃ en la germinación *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

Tabla 7. Análisis de varianza para la formación de protocormos *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC Ajust.	Valor p
MS	1	31,984	0,174
AIA	1	69,086	0,049
AG ₃	1	0,022	0,971
MS*AIA	1	82,042	0,033
MS*AG ₃	1	110,132	0,015
AIA*AG ₃	1	29,705	0,190
MS*AIA*AG ₃	1	28,312	0,200
Error	32	529,084	
Total	39	880,367	

GL: Grados de libertad

SC: Suma de cuadrados

MS: Murashige y Skoog

AIA: ácido indolacético

AG₃: ácido giberélico

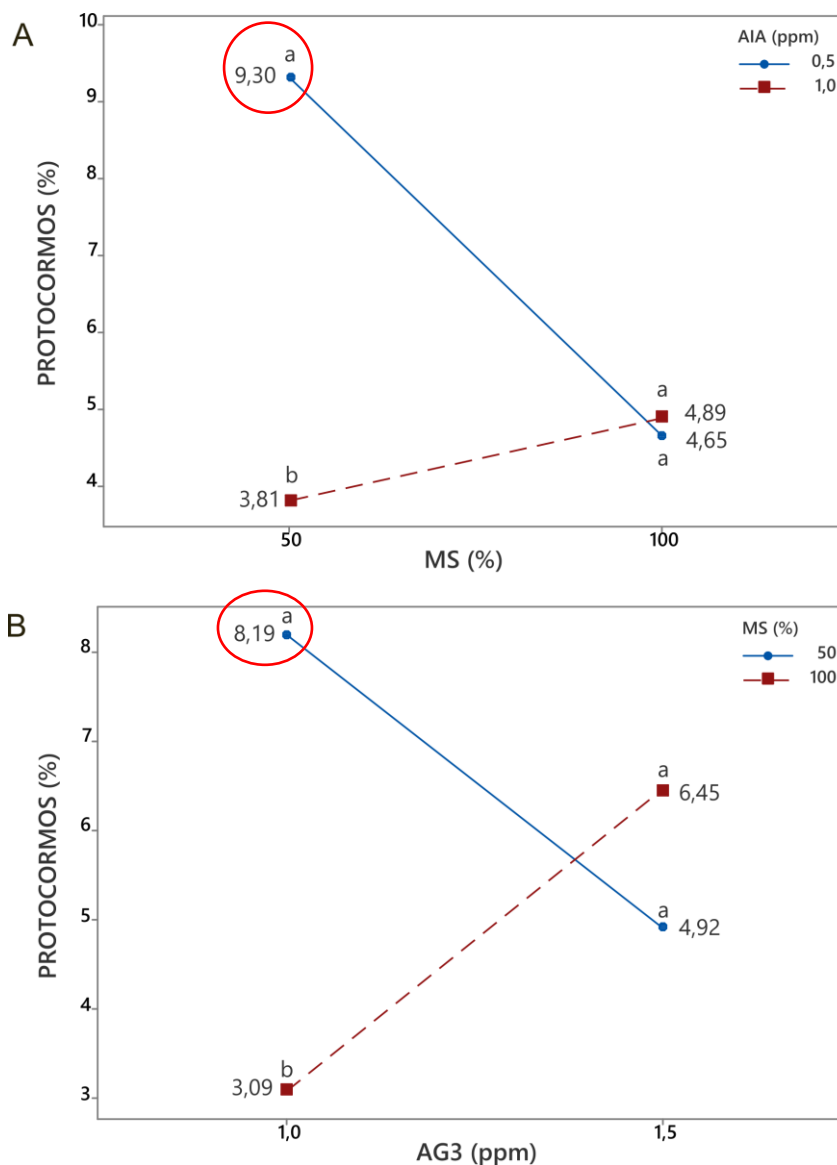


Figura 13. Evaluación Tukey ($p < 0.05$) en (A) interacción de MS*AIA, (B) interacción de AG₃*MS para el proceso de formación de protocormos *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

letras (a, b,) indican diferencias estadísticas según el Test de Tukey ($p < 0,05$). La interacción MS en su nivel 50% con AIA en su nivel 0,5 representa la media más alta del porcentaje de formación de protocormos, asociado a la mejor interacción de los factores. La interacción AG₃ en su nivel 1,0 con MS en su nivel 50% representa la media más alta del porcentaje de formación de protocormos, asociado a la mejor interacción de los factores.

V. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que, el mayor porcentaje de germinación a los 70 días, fue de 14,82% (MS al 50% + 0,5 mg/mL AIA + 1,0 mg/mL AG₃) (Figura 6), este resultado puede sugerir que la germinación inicial en medios de cultivo depende principalmente de la activación metabólica del embrión tras la imbibición y de la disponibilidad de nutrientes básicos proporcionados por el medio. En tal sentido, la presencia de los fitorreguladores en esta etapa temprana no parece ejercer un efecto determinante sobre el inicio del proceso germinativo. La Figura 7 muestra la formación de protocormos a los 70 días, evidenciando que el desarrollo embrionario comienza a manifestarse gradualmente en los distintos tratamientos. En esta etapa, algunas semillas germinadas inician la diferenciación del protocormo. El tratamiento 5 (MS al 50% + 0,5 mg/mL AIA + 1,0 mg/mL) es el que evidenció mayor formación de protocormos (4,59%) a comparación del resto. Posterior a ello se evaluó la germinación a los 90 días después de la siembra, donde el tratamiento 7 (MS al 50% + 1,0 mg/mL AIA + 1,0 mg/mL AG₃) presentó el mayor porcentaje de germinación, alcanzando un 14,98%. Le siguieron el tratamiento 5 (MS al 50% + 0,5 mg/mL AIA + 1,0 mg/mL AG₃) con un 14,82% y el tratamiento 2 (MS al 50% + 0,5 AIA mg/mL + 1,5 mg/mL AG₃) con un 11,46% (Figura 8). Resultados similares han sido reportados por Ruiz (2021), quien evaluó la germinación de *Phragmipedium kovachii* utilizando el medio Murashige y Skoog (MS) a media concentración (50%), obteniendo aproximadamente un 20% de germinación a los 70 días después de la siembra. De manera comparable, Sánchez (2021) superó estos resultados, alcanzando un promedio de germinación de 60,48%, utilizando también MS a media concentración (50%). Sin embargo, este valor corresponde a muestras tomadas al azar y a la combinación de diferentes tratamientos con auxinas y citoquininas, por lo que no refleja el efecto específico de un tratamiento determinado. Por otro lado, Galvez Panduro (2005), reportó un porcentaje de germinación de 25,4 % para

Phragmipedium kovachii a los 30 días después de la siembra utilizando igualmente medio MS al 50%. En relación con la formación de protocormos a los 90 días después de realizar la siembra (Figura 9), el tratamiento 5 obtuvo un porcentaje de 12,64 %, seguido del tratamiento 4 con un 6,59% de formación de protocormos, estos resultados son comparables a los reportados por Sanchez (2021), quien obtuvo un 16,09% de formación de protocormos a 105 días después de la siembra. Según Pérez y Castañeda (2016), la germinación y formación de protocormos *in vitro* de semillas de orquídeas puede cambiar significativamente dependiendo de factores como la especie, el grado de madurez de la cápsula y la calidad fisiológica de las semillas. Asimismo, Guzmán Inga (2016) evaluó el porcentaje de germinación de *Phragmipedium kovachii* hasta la formación del protocormo utilizando tres medios de cultivo con distinta formulación: Murashige y Skoog (MS), Robert y Ernst (RE) y Thomale (GD). Los resultados mostraron que el medio Robert y Ernst (RE) promovió la mayor tasa de germinación, alcanzando un 52 %, superando significativamente a los medios Thomale (GD) y Murashige y Skoog (MS), los cuales presentaron porcentajes de germinación de 25 % y 23 %, respectivamente. Este mayor porcentaje de germinación podría estar relacionado con que el medio RE lleva carbón activado, el cual puede mejorar las condiciones del cultivo al adsorber compuestos inhibidores y favorecer la formación de protocormos. En dicho estudio, además, se registró un porcentaje de germinación de hasta 75 % después de cuatro semanas de cultivo. De igual manera, estudios realizados por Muñoz y Jiménez (2007) evaluaron la viabilidad de las semillas, para corregir el porcentaje de germinación, y obtuvieron los siguientes resultados: *Phragmipedium longifolium* 41,3 %, *Phragmipedium pearcei* 38.7 % y *Phragmipedium humboldtii* 2,9 % de germinación. Además, mencionan que el medio de cultivo no tuvo efecto sobre la germinación de las especies estudiadas ($p>0.05$). En cuanto a la formación de protocormos señalaron que medios de cultivo con concentraciones de sales al 50% favorecen la formación de protocormos en las especies del género *Phragmipedium*, lo que sugiere que estas especies presentan una mejor respuesta fisiológica en medios con menor fuerza iónica. Esto podría estar relacionado con la sensibilidad de los embriones de orquídeas a concentraciones elevadas de nitrógeno y otros macroelementos presentes en el medio Murashige y Skoog completo.

La tabla 4 muestra el análisis de varianza de la germinación a los 70 días, en el que ninguno de los factores principales (MS, AIA, AG₃), ni sus interacciones, influyó significativamente sobre la germinación de las semillas. No obstante, el AIA mostró

una mayor tendencia a favorecer la germinación cuando se utiliza la concentración de 0,5 mg/L en comparación de 1,0 mg/L. Sin embargo, esta diferencia tampoco fue estadísticamente significativa ($p= 0,062$) (Figura 10). Este comportamiento podría explicarse debido a que el AIA, como auxina, participa principalmente en procesos de elongación celular y diferenciación más que en la activación metabólica inicial del embrión, lo que limita su efecto durante la fase de germinación temprana (Pedroza, 2009).

Por otro lado, el análisis de varianza para la formación de protocormos *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum*, a los 70 días (Tabla 5), evidenció que, si bien los efectos principales no muestran efectos significativos, las interacciones sí muestran efectos significativos, como es el caso de la interacción MS*AIA (Figura 11), lo cual indica que el efecto del AIA sobre la formación de protocormos depende de la concentración de sales del medio de cultivo utilizado (50% o 100%). Asimismo, la interacción AG₃*AIA, mostró que la combinación de 1,0 mg/L de AG₃ con 0,5 mg/L de AIA, favoreció una mayor formación de protocormos (Figura 11). Por tanto, el efecto del AG₃ es relevante en combinación con el medio de cultivo. En esta etapa del desarrollo si se detectaron efectos significativos, lo que indica que los fitorreguladores tienen mayor influencia en los procesos de diferenciación como la formación de protocormos que en la germinación inicial. (Manrique et al., 2008). Álvarez (1997) señala que la aplicación consecutiva de giberelinas y auxinas en tejidos vegetales produce una marcada respuesta de elongación celular, evidenciando una interacción sinérgica y una dependencia parcial entre ambos fitorreguladores. En tal sentido, Davies (1987) menciona que el AG₃ estimula la síntesis de la pared celular, proceso que no origina directamente el crecimiento, pero que resulta esencial para mantener la integridad estructural de las células durante la elongación rápida precedida por el alargamiento celular. Rojas y Ramírez (1993) afirman que las auxinas inducen el alargamiento celular cuando se aplican en bajas concentraciones; sin embargo, a concentraciones elevadas pueden generar un efecto inhibitorio sobre el crecimiento.

La Tabla 6 muestra, el análisis de varianza de la germinación *in vitro* a los 90 días después de la siembra, donde se observa que los efectos principales de los factores evaluados (MS, AIA y AG₃) no fueron estadísticamente significativos ($p>0,05$). No obstante, se observó una disminución de la germinación a mayores concentraciones de AIA y AG₃, lo cual sugiere un posible efecto inhibitorio asociado al desbalance hormonal (Taiz et al., 2015) (Figura 12). De igual manera, Rasmussen, (1995)

menciona que durante las primeras fases de la germinación las semillas de orquídeas presentan una actividad metabólica limitada, por lo que la respuesta a fitorreguladores suele manifestarse en etapas posteriores del desarrollo, especialmente durante la diferenciación celular y formación de protocormos. Asimismo, aunque las interacciones no fueron significativas, la interacción MS*AG₃ presentó una tendencia cercana a la significancia ($p=0.052$), lo cual sugiere la necesidad de realizar estudios complementarios.

En la Tabla 7, el análisis de varianza evidenció diferencias significativas en la formación de protocormos de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe a los 90 días de cultivo *in vitro*, particularmente asociadas a la aplicación de ácido indolacético (AIA) y a las interacciones MS*AIA y MS*AG₃, las cuales presentaron valores de $p<0,05$. Estos resultados indican que la respuesta morfogénica de las semillas depende tanto del tipo de regulador de crecimiento como de su interacción con el medio de cultivo (Alcántara, et al, 2019).

El AIA mostró un efecto significativo ($p = 0,049$), lo que sugiere que esta auxina favorece la formación de protocormos, ya que su principal punto de acción se encuentra a nivel celular, donde tiene la capacidad de intervenir en procesos de división, elongación y diferenciación celular durante las etapas tempranas de la organogénesis. (Alcántara et al, 2019). Este resultado coincide con lo reportado por Pedroza (2009), quien menciona que concentraciones moderadas de AIA promueven el alargamiento y crecimiento de protocormos, mientras que concentraciones más elevadas tienden a reducir este efecto. De acuerdo con ello, Manrique et al., (2008), destacan que el AIA favorece el crecimiento y alargamiento de los protocormos, especialmente cuando se aplica en concentraciones de 1 mg/L, no obstante este efecto tiende a disminuir conforme se incrementa la concentración del regulador de crecimiento. Resultados similares fueron reportados Coello et al., (2010), quienes observaron que las semillas de *Guarianthe skinneri* germinaron a cuatro semanas posteriores a la siembra y se obtuvieron protocormos tras dos semanas más posteriores a la siembra, en respuesta a la formación de protocormos indican, que el mejor crecimiento de los protocormos se obtuvo con la menor concentración de AG₃ (2,9 umol) y la mayor concentración de AIA (17,1 umol).

Por otro lado, la Figura 13 mostró que la interacción MS*AIA ($p = 0,033$) fue altamente significativa, evidenciando una relación sinérgica entre la composición del medio de cultivo y la auxina. Esto nos vuelve a evidenciar que la respuesta del tejido vegetal al AIA depende del equilibrio de nutrientes y sales presentes en el medio

MS, lo cual puede modular la disponibilidad y acción de la hormona. Asimismo, la interacción MS*AG₃ ($p = 0,015$) también resultó significativa, indicando que el ácido giberélico, aunque no mostró efecto individual ($p = 0,971$), potencia su efecto en combinación con el medio MS, posiblemente al incrementar los niveles de carbohidratos solubles y favorecer el metabolismo energético, tal como describen Białecka y Kępczyński (2007). Cabe resaltar que el AG₃ promueve la ruptura de la dormancia y la activación de procesos metabólicos asociados a la germinación, promoviendo el crecimiento y desarrollo del embrión. Asimismo, favorece la elongación celular y la movilización de nutrientes necesarios para el establecimiento inicial de las estructuras embrionaria. (Gupta y Chakrabarty, 2013).

Las demás interacciones, incluyendo la triple (MS *AIA* AG₃; $p = 0,200$), no presentaron diferencias significativas, aunque mostraron tendencias que podrían ser biológicamente relevantes. Esto sugiere que el efecto conjunto de los fitorreguladores y el medio puede depender de proporciones precisas o de la duración de la exposición hormonal, como señalan Naor et al. (2008), quienes mencionan que el GA₃ puede actuar de manera transitoria mediante un “pulso” hormonal que estimula respuestas específicas del desarrollo.

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que el AIA y el AG₃, en interacción con el medio MS, desempeñan un papel progresivo y complementario en el desarrollo *in vitro* de *Phragmipedium caudatum*. Mientras que a los 70 días su efecto sobre la germinación aún no fue significativo, a los 90 días se observó una influencia clara sobre la formación de protocormos, sugiriendo que la respuesta fisiológica de la especie requiere un periodo de inducción hormonal más prolongado. Por lo tanto, la combinación adecuada de auxinas y giberelinas junto con el medio MS constituye una estrategia prometedora para optimizar protocolos de propagación *in vitro* de esta especie.

VI. CONCLUSIONES

- Se logró evaluar los efectos de los medios de cultivo empleados en la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe.
- El medio más adecuado para la germinación de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, resultó ser el medio MS al 50% + 1,0 mg/L de AIA + 1,0 mg/L de AG₃ (T7), ya que presentó el mayor porcentaje de germinación (14,98%) a los 90 días después de la siembra.
- El medio que resultó más adecuado para la formación de protocormos *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe fue el medio MS al 50% + 0,5 mg/L de AIA + 1,0 mg/L de AG₃ (T5), ya que registró el mayor porcentaje de formación de protocormos (12,64%), a los 90 días después de la siembra.

VII. RECOMENDACIONES

- Para una futura investigación, se recomienda aumentar el número de réplicas y, si es posible, el número de unidades experimentales (placas) por tratamiento para incrementar la potencia estadística y reducir la variabilidad experimental.
- Es fundamental establecer una iluminación artificial apropiada, considerando las condiciones de exposición lumínica que el espécimen presenta en su hábitat natural. De esta manera, se evitan posibles efectos derivados de una iluminación insuficiente que podrían modificar los resultados y dificultar la interpretación precisa de las respuestas inducidas por los fitorreguladores u otros factores evaluados.
- Se recomienda hacer repiques cada 30 días como máximo, para evitar posibles fenalizaciones de los protocormos.
- Medir múltiples variables además del porcentaje de germinación: índice de velocidad de germinación, tamaño y longitud de protocormos, porcentaje de diferenciación, mortalidad, etc. con la finalidad de lograr un mayor panorama de los efectos generados por los fitorreguladores.
- Realizar experimentos posteriores: aclimatación de protocormos a condiciones ex vitro, ensayo de trasplante a medios de cultivos para multiplicación y evaluación de supervivencia.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcantara Cortes, J. S., Acero Godoy, J. y Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109–129. <https://doi.org/10.22490/24629448.3639>
- Alvarez, B. (1997). *Reguladores del crecimiento vegetal* (Cuarta Edición). Trillas,.
- Amador Alférez, K. A., Díaz González, J., Loza Cornejo, S., y Bivián Castro, E. Y. (2013). Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). *Polibotánica*, (35), 109–131. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-27682013000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Arditti, J., & Ghani, A. K. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, 145(3). <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00587.x>
- Arditti, R. E. J., & Ernst, R. (1993). *Micropropagation of orchids*. Wiley N. Y.
- Barrionuevo, M. I. M. (2011). *Evaluación de medios de cultivo para la germinación “in vitro” de las orquídeas *Cyrtorchilum macranthum* y *Epidendrum jameisonii* Rchb.F.* [Título profesional]. Universidad Técnica de Ambato.
- Bialecka, B., & Kępczyński, J. (2007). Cambios en las concentraciones de carbohidratos solubles durante la germinación de semillas de *Amaranthus caudatus* L. en relación con el etileno, la giberelina y el metil jasmonato. *Plant Growth Regulation*, 51(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10725-006-9145-z>
- Billard, C. E., & Dalzotto, C. A. (2014). *Desinfección y siembra asimbiótica de semillas de dos especies y una variedad de orquídeas del género *Oncidium**. (38), 145–157.
- Calaway H., D. (2025). *Orquídea: Morfología, polinización y adaptaciones*. <https://www.britannica.com/plant/orchid/Characteristic-morphological-features>
- Cameron, S. A. (2004). Phylogeny and biology of neotropical orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Entomology*, 49, 377–404. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.072103.115855>
- Cerna Cevallos, M. F., Aucapiña Criollo, C. B., & Lopez Peña, P. A. (2016). Definición de Protocolos para el Uso de Fitohormonas en el Crecimiento de Orquídeas a Nivel in Vitro. *Revista Congreso De Ciencia Y Tecnología*, 16(16), 12–20. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/12147>
- CITES. (2023). *Appendices I, II and III*. <https://cites.org/eng>
- Coello, C. Y., Miceli, C. L., Orantes, C., DenDoooven, L., & Gutiérrez, F. A. (2010). Optimización de reguladores de crecimiento para el cultivo in vitro de la orquídea *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressier & W.E.Higgins. *Gayana Botánica*, 67(1), 19–26. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432010000100003>
- Dressler, R. L. (1993). *Phylogeny and classification of the orchid family*.
- Freuler, M. J. (2008). *Orquídeas* (Segunda Edición). Editorial Albatros.

- Galvez Panduro, R. A. (2005). Desarrollo de protocolo para la propagación in vitro del *phragmipedium kovachii* attwood dalstrom & Fernandéz (orchidaceae) a partir de semillas. *Repositorio - UNSM*. <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/733>
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). *Plant propagation by tissue culture* (Tercera Edición). Springer.
- Gil Rivero, A., López Medina, E., & López Zavaleta, A. (2016). Efecto sinérgico del ácido indolacético, ácido giberélico y 6-bencilaminopurina en la propagación in vitro de “papaya” *Carica papaya* L. (Caricaceae). *Arnaldoa*, 23(2). <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.232.23210>
- Goicochea Rojas, A. (2023). *Orquídeas del Perú* (1a ed.). Corporación G y G E.I.R.L. <http://isbn.bnpgob.pe/>
- 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), Article 2. <https://doi.org/10.57188/manglar.2024.019>
- Gupta, R., & Chakrabarty, S. K. (2013). Ácido giberélico en las plantas. *Plant Signaling & Behavior*, 8(9), e25504. <https://doi.org/10.4161/psb.25504>
- Guzmán Inga, L. (2016). *Evaluación de la eficacia de tres medios de cultivo en la germinación in vitro de Phragmipedium kovachii A, D & F (zapatito)—Provincia de San Martín—2016* [Universidad Alas Peruanas]. <https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/7355>
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., & Geneve, R. L. (2011). *Plant propagation: Principles and practices* (Octava Edición). Prentice Hall. https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781292034133_A24589361/preview-9781292034133_A24589361.pdf
- Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. En *Fisiología Vegetal* (Vol. 15). Ediciones Universidad de La Serena.
- Kitsaki, C. K., Zygouraki, S., Ziobora, M., & Kintzios, S. (2004). In vitro germination, protocorm formation and plantlet development of mature versus immature seeds from several *Ophrys* species (Orchidaceae). *Plant Cell Reports*, 23(5), 284–290. <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0841-8>
- Lallana, V. H., Billard, C. E., Martínez, V. A., García, L. F., Barsanti, M. V., Persia, J. F. D., Dalzotto, C., Scimpft, K., & Cruz, V. D. L. (2016). Conservación de orquídeas nativas de Entre Ríos utilizando técnicas de cultivo de tejidos “in vitro”. *Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento*, 6(6), Article 6. <https://pcient.uner.edu.ar/index.php/Scdyt/article/view/278>
- Llanos Buendia, C. I. (2015). *Micropropagación in vitro de piña, ananas comosus (L.) Merr Var. MD2 (Bromeliaceae) bajo un sistema de biorreactores de inmersión temporal* [Título profesional]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Lo, S.-F., Nalawade, S. M., Kuo, C.-L., Chen, C.-L., & Tsay, H.-S. (2004). Asymbiotic germination of immature seeds, plantlet development and ex vitro establishment of plants of *Dendrobium tosaense* makino—A medicinally

- improrant orchid. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 40(5), 528–535. <https://doi.org/10.1079/IVP2004571>
- Manrique, J. P., Lizarazo, C. F., & Suárez, S. A. (2008a). Influencia del AIA, AG3 y Kinetina en el color, forma y tamaño de los protocormos de *Comporettia falcata* (Orchidaceae) durante su germinación bajo condiciones in vitro. *Revista Científica*, (10), 119–132. <https://doi.org/10.14483/23448350.301>
- Manrique, J. P., Lizarazo, C. F., & Suárez, S. A. (2008b). Influencia del AIA, AG3 y Kinetina en el color, forma y tamaño de los protocormos de *Comporettia falcata* (Orchidaceae) durante su germinación bajo condiciones in vitro. *Revista Científica*, (10), Article 10. <https://doi.org/10.14483/23448350.301>
- McKendrick, S. (2000). *Manual para la germinación in vitro de orquídeas*. Fundación Ceiba para la Conservación Tropic. https://www.academia.edu/15686103/manual_para_la_germinacion_in_vitro_de_orquideas
- Menezes Gonçalves, L., P. S. Machado, M. de F., Ballesta, P., Mora, F., Milaneze Gutierrez, M. A., & Mangolin, C. A. (2016). Suplementos orgánicos para el cultivo in vitro del híbrido *Laeliocattleya* (Orchidaceae). *Idesia (Arica)*, 34(1), 47–54. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292016000100006>
- Mechaca, R. A. (2011). Manual para la propagación de orquídeas. In Comisión Nacional Forestal (1a edición, Vol. 1). http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/documentos/manual_para_la_p_Ropagacion_de_orquideas.pdf
- MINAM. (2009). *Decreto Supremo N° 003-2009-MINAM*. https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2013/09/ds_003-2009-minam-y-anexo.pdf
- MINAM. (2015). *Guía de Identificación de Orquídeas con Mayor Demanda Comercial* (Primera edición). <https://www.gob.pe/institucion/minam/informes-publicaciones/2572-guia-de-identificacion-de-orquideas-con-mayor-demanda-comercial>
- MINAM. (2017a). *Ley 28216 De protección al acceso a la diversidad biológica peruana y los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas*.
- MINAM. (2017b). *Orquídeas del Perú y herramientas para su identificación* (Primera edición). <https://www.gob.pe/institucion/minam/informes-publicaciones/2433-orquideas-del-peru-y-herramientas-para-su-identificacion>
- MINAM. (2018). *Listado de especies de flora silvestre CITES - Perú*. <https://www.minam.gob.pe/simposio-peruano-de-especies-cites/wp-content/uploads/sites/157/2018/08/Listado-flora-cites-final.pdf>
- Muñoz, M., & Jiménez, V. (2015). Desarrollo de cápsulas y germinación in vitro de *Phragmipedium humboldtii*, *P. longifolium* y *P. pearcei*. *Lankesteriana*, 7(1–2). <https://doi.org/10.15517/lank.v7i1-2.19529>
- Naor, V., Kigel, J., Ben-Tal, Y., & Ziv, M. (2008). Variation in Endogenous Gibberellins, Abscissic Acid, and Carbohydrate Content During the Growth Cycle of Colored *Zantedeschia* spp., a Tuberous Geophyte. *Journal of Plant*

- Growth Regulation*, 27(3), 211–220. <https://doi.org/10.1007/s00344-008-9048-5>
- Pedroza-Manrique, J. A. (2009). Efecto del carbón activado, ácido indolacético (AIA) y bencil amino purina (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq bajo condiciones in vitro. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(1), 17–32. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-34752009000100003&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Pérez Martínez, B. A., & Castañeda Garzón, S. L. (2016). *Propagación in vitro de orquídeas nativas como una contribución para la conservación ex situ* (Pt. 143 - 151). 16(3).
- Rademacher, W. (2016). Chemical regulators of gibberellin status and their application in plant production: Gibberellins, The. En *Annual Plant Reviews: The Gibberellins* (Vol. 49, pp. 359–404). <https://doi.org/10.1002/9781119210436.ch12>
- Rasmussen, H. N. (1995). *Orquídeas terrestres: De la semilla a la planta micotrófica*. Cambridge University Press.
- Rojas Garcidueñas, M., & Ramírez, H. (1993). *Control hormonal del desarrollo de las plantas* (Segunda edición). Editorial Limusa. <https://biblioteca.unapiquitos.edu.pe/bib/26426>
- Ruiz Sánchez, M. E. (2021). *Efecto de cuatro medios de cultivo en la formación de protocormos in vitro de Phragmipedium kovachii J.T. Atwood, Dalstrom & Ric. Fernández Y Phragmipedium besseae Dodson & J.A. Kuhn. En la región San Martín*. <https://hdl.handle.net/20.500.14292/1990>
- Salgado, J. M., & Peñaranda Gonzalez, L. V. (2019). Modificaciones en medios de cultivo aplicadas en conservación y producción in-vitro de orquídeas. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(1), 16–28. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8739283>
- Sánchez González, A., & González Ledesma, M. (2007). Técnicas de recolecta de plantas y herborización. En *La sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad* (pp. 122–133). https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI_Biologia/arturo_sanchez/Capitulo12.pdf
- Sánchez, M. E. R. (2021). Micropropagación de *Phragmipedium kovachii*, con fines de conservación genética. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 1(1), Article 1. <https://doi.org/10.51252/raa.v1i1.99>
- Sedano, G., Manzo, A., & Roldán, R. (2015). *Propagación in vitro de orquídeas y otras ornamentales*. 1.
- SERFOR. (2015). *Ley Forestal y de Fauna Silvestre Ley No 29763 y sus reglamentos*. Ministerio de Agricultura.
- SERFOR. (2020a). *Plan nacional de conservación de las orquídeas amenazadas del Perú* (Primera Edición).
- SERFOR. (2020b). *Plan Nacional de las Orquídeas Amenazadas del Perú—Período 2020—2029. Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre*. <https://repositorio.serfor.gob.pe/handle/SERFOR/897>

- Singer, R. B. (2009). Morfología floral y polinización de orquídeas: el segundo libro de charles darwin. *Acta Biológica Colombiana*, 14, 337–348. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-548X2009000400021&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant Physiology and Development* (6ta Edition). Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- Tarazona, F. P., Lu, J. K. G., & Flores, L. F. (2025). Diversidad e inventario de orquídeas de los bosques de neblina: Carpish y La Divisoria, Perú. *Revista Alfa*, 9(25), Article 25. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v9i25.333>
- Vargas Peñafiel, A. (2012). *Establecimiento de un protocolo para el cultivo in vitro de semillas de Cattleya violacea*. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/1671>
- WFO. (2023, noviembre 24). *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. WFO La flora mundial en línea. <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000269960#citation1>

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia.

Efecto del medio MS y dos fitorreguladores en la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, Ayacucho 2024

Autor: Marcia Fernanda Infante Coras **Asesores:** Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN y Mg. Paula García Godos Alcázar

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
PROBLEMA GENERAL - ¿Cuál será el medio de cultivo adecuado para la germinación y formación de protocormos <i>in vitro</i> de la orquídea <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe?	OBJETIVO GENERAL Evaluar el efecto de los medios de cultivo empleados en la germinación y formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe OBJETIVOS ESPECÍFICOS - Determinar el medio de cultivo adecuado para la germinación de las semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe. - Determinar el medio de cultivo adecuado para formación de protocormos de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe.	Generalidades de la Orquídea Familia de angiospermas monocotiledóneas que se distingue por sus flores especializadas, semillas microscópicas y una amplia diversidad de formas de crecimiento y adaptación ecológica. Propagación vegetal: Micropropagación: Medios de cultivo: Medio Murashige y Skoog Modificado El medio Murashige y Skoog (MS) es comúnmente usado para cultivos de tejidos vegetales y han probado ser efectivas para el crecimiento y propagación de monocotiledóneas y dicotiledóneas	HIPOTESIS GENERAL La germinación y formación de protocormos <i>in vitro</i> de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe será más favorable en uno de los medios de cultivos, que presente una mejor combinación de concentraciones de MS y fitorreguladores AIA y AG ₃ .	VARIABLE Variables independientes Factor A: Medio Murashige y Skoog Niveles 50% Murashige y Skoog 100% Murashige y Skoog Factor B: Ácido indolacético AIA 0.5 mg/L 1.0 mg/L 1.5 mg/L Factor C: Ácido giberelico AG ₃ 1.0 mg/L 1.5 mg/L Variables dependientes - Germinación de semillas - Formación de protocormos Indicadores: - Porcentaje de germinación - Porcentaje de protocormos	Tipo de investigación Básico - experimental Régimen de investigación Libre Diseño Experimental Se empleará el diseño completamente aleatorizado (DCA) con arreglo factorial 2 ³ . Población y muestra Población Orquídeas de la especie <i>Phragmipedium caudatum</i> . Muestra biológica Cápsulas que contiene las semillas de <i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe Método: - Obtención y almacenamiento de material vegetal. - Preparación de medios de cultivo. - Desinfección de las semillas. - Germinación y formación de protocormos <i>in vitro</i>. - Recolección de datos. Análisis estadístico Para analizar el efecto de los tratamientos se empleará el análisis de varianza (ANVA), y la comparación entre los promedios de cada tratamiento se realizará con la prueba Tukey ($\alpha=0.05$). El análisis estadístico se realizará empleando el lenguaje de programación R versión 4.2.2 (R CoreTeam, 2020).

Anexo 2. Tabla de Excel del día 70 de evaluación de la germinación y formación de protocormos de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, hasta la repetición 5.; T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8).

	T1				T2				T3				T4				T5				T6				T7				T8			
Rep	Total	Fase	Nro	%	Total	Fase	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FAS	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%
1	45	1	14	31.1	69	1	5	7.25	41	1	18	43.9	122	1	20	16.4	40	1	8	20	38	1	2	5.3	94	1	13	13.8	94	1	2	2.13
		2	21	46.7		2	19	27.5		2	12	29.3		2	18	14.8		2	15	37.5		2	19	50		2	17	18.1		2	37	39.4
		3	0	0		3	7	10.1		3	1	2.44		3	0	0		3	7	17.5		3	3	7.9		3	0	0		3	1	1.06
		4	0	0		4	0	0		4	0	0		4	0	0		4	1	2.5		4	0	0		4	0	0		4	0	0
2	41	1	7	17.1	68	1	9	13.2	52	1	18	34.6	57	1	16	28.1	41	1	3	7.317	55	1	2	3.6	32	1	1	3.13	60	1	0	0
		2	20	48.8		2	18	26.5		2	7	13.5		2	9	15.8		2	21	51.22		2	22	40		2	15	46.9		2	23	38.3
		3	0	0		3	2	2.94		3	6	11.5		3	4	7.02		3	7	17.07		3	3	5.5		3	4	12.5		3	7	11.7
		4	0	0		4	0	0		4	1	1.92		4	1	1.75		4	3	7.317		4	0	0		4	1	3.13		4	2	3.33
3	24	1	11	45.8	60	1	10	16.7	48	1	24	50	47	1	8	17	28	1	1	3.571	39	1	9	23	47	1	15	31.9	57	1	4	7.02
		2	11	45.8		2	19	31.7		2	13	27.1		2	15	31.9		2	15	53.57		2	21	54		2	21	44.7		2	24	42.1
		3	5	20.8		3	6	10		3	0	0		3	4	8.51		3	3	10.71		3	4	10		3	0	0		3	6	10.5
		4	1	4.17		4	0	0		4	0	0		4	2	4.26		4	2	7.143		4	0	0		4	0	0		4	1	1.75
4	104	1	2	1.92	45	1	13	28.9	62	1	7	11.3	32	1	12	37.5	58	1	2	3.448	80	1	6	7.5	64	1	30	46.9	81	1	13	16
		2	38	36.5		2	10	22.2		2	17	27.4		2	11	34.4		2	25	43.1		2	50	63		2	15	23.4		2	18	22.2
		3	8	7.69		3	4	8.89		3	10	16.1		3	5	15.6		3	4	6.897		3	3	3.8		3	3	4.69		3	1	1.23
		4	0	0		4	0	0		4	0	0		4	1	3.13		4	2	3.448		4	0	0		4	0	0		4	0	0
5	38	1	8	21.1	49	1	15	30.6	59	1	16	27.1	117	1	5	4.27	39	1	5	12.82	35	1	2	5.7	28	1	6	21.4	67	1	10	14.9
		2	12	31.6		2	8	16.3		2	37	62.7		2	33	28.2		2	20	51.28		2	14	40		2	18	64.3		2	19	28.4
		3	5	13.2		3	9	18.4		3	4	6.78		3	12	10.3		3	4	10.26		3	4	11		3	1	3.57		3	5	7.46
		4	0	0		4	0	0		4	0	0		4	4	3.42		4	1	2.564		4	0	0		4	0	0		4	1	1.49
	T1				T2				T3				T4				T5				T6				T7				T8			

Rep.) nro de repetición, Total) total de semillas evaluadas, Fase) fases de germinación y formación de protocormos: 1= imbibición, 2= ruptura de testa, 3= germinación, 4=protocormos, N°) Semillas por fase , %) porcentaje de semillas.

Anexo 3. Tabla de Excel del día 90 de evaluación de la germinación y formación de protocormos de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, hasta la repetición 5; T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8).

	T1				T2				T3				T4				T5				T6				T7				T8			
Rep	Total	FASE	Nro	%	Total	Fase	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%	Total	FASE	Nro	%
1	45	1	24	53.3	69	1	4	5.8	41	1	11	26.8	122	1	12	9.84	40	1	2	5	38	1	3	7.9	94	1	19	20.2	94	1	4	4.26
		2	19	42.2		2	18	26.1		2	13	31.7		2	28	23		2	12	30		2	13	34		2	29	30.9		2	36	38.3
		3	0	0		3	9	13		3	4	9.76		3	6	4.92		3	8	20		3	5	13		3	3	3.19		3	3	3.19
		4	0	0		4	2	2.9		4	0	0		4	0	0		4	4	10		4	3	7.9		4	0	0		4	0	0
2	41	1	5	12.2	68	1	11	16.2	52	1	8	15.4	57	1	9	15.8	41	1	2	4.878	55	1	0	0	32	1	1	3.13	60	1	0	0
		2	13	31.7		2	19	27.9		2	12	23.1		2	13	22.8		2	12	29.27		2	14	25		2	8	25		2	26	43.3
		3	6	14.6		3	2	2.94		3	4	7.69		3	4	7.02		3	10	24.39		3	5	9.1		3	9	28.1		3	9	15
		4	0	0		4	5	7.35		4	4	7.69		4	3	5.26		4	6	14.63		4	4	7.3		4	2	6.25		4	7	11.7
3	24	1	9	37.5	60	1	17	28.3	48	1	17	35.4	47	1	10	21.3	28	1	0	0	39	1	5	13	47	1	15	31.9	57	1	15	26.3
		2	15	62.5		2	12	20		2	19	39.6		2	11	23.4		2	13	46.43		2	21	54		2	21	44.7		2	9	15.8
		3	3	12.5		3	7	11.7		3	0	0		3	1	2.13		3	4	14.29		3	4	10		3	6	12.8		3	6	10.5
		4	1	4.17		4	4	6.67		4	0	0		4	7	14.9		4	6	21.43		4	3	7.7		4	0	0		4	1	1.75
4	104	1	8	7.69	45	1	9	20	62	1	9	14.5	32	1	5	15.6	58	1	7	12.07	80	1	21	26	64	1	16	25	81	1	7	8.64
		2	31	29.8		2	14	31.1		2	14	22.6		2	16	50		2	14	24.14		2	21	26		2	11	17.2		2	21	25.9
		3	7	6.73		3	6	13.3		3	4	6.45		3	3	9.38		3	3	5.172		3	4	5		3	6	9.38		3	6	7.41
		4	3	2.88		4	2	4.44		4	3	4.84		4	3	9.38		4	4	6.897		4	1	1.3		4	0	0		4	0	0
5	38	1	5	13.2	49	1	10	20.4	59	1	14	23.7	117	1	4	3.42	39	1	12	30.77	35	1	9	26	28	1	2	7.14	67	1	2	2.99
		2	7	18.4		2	10	20.4		2	35	59.3		2	30	25.6		2	8	20.51		2	5	14		2	12	42.9		2	17	25.4
		3	4	10.5		3	8	16.3		3	6	10.2		3	14	12		3	4	10.26		3	2	5.7		3	6	21.4		3	6	8.96
		4	3	7.89		4	5	10.2		4	2	3.39		4	4	3.42		4	4	10.26		4	2	5.7		4	1	3.57		4	4	5.97
	T1				T2				T3				T4				T5				T6				T7				T8			

Rep.) nro de repetición, Total) total de semillas evaluadas, Fase) fases de germinación y formación de protocormos: 1= imbibición, 2= ruptura de testa, 3= germinación, 4=protocormos, N°) Semillas por fase , %) porcentaje de semillas.

Anexo 4. Composición de medio Murashige y Skoog.

REACTIVO	PESO MOLECULAR	g/1000 ml H ₂ O
Macronutrientes		
KNO ₃	101,10	190,000
NH ₄ NO ₃	80,04	165,000
CaCl ₂ .2H ₂ O	147,00	44,000
KH ₂ PO ₄	136,10	17,000
MnSO ₄ .7H ₂ O	169,10	0,1690
Micronutrientes		
ZnSO ₄ .7H ₂ O	179,45	0,0614
H ₃ BO ₃	61,83	0,0620
KI	166,01	0,0083
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	241,95	0,0025
CoSO ₄ .6H ₂ O*	237,93	0,0025
CuSO ₄ .6H ₂ O*	249,70	0,0025
MgSO ₄ .7H ₂ O	246,5	3,7
FeSO ₄ .5H ₂ O	336,2	0,746
Na ₂ EDTA	278,0	0,556
Vitaminas		
REACTIVO	mg/50 ml H ₂ O	
Tiamina HCl	-	0,1
Piridoxina	-	0,5
Ácido nicotínico	-	0,5
Glicina	-	2,0

Anexo 5. Análisis de varianza de la germinación *in vitro* a partir de semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MS	1	0,30	0,301	0,01	0,930
AIA	1	141,21	141,211	3,73	0,062
AG ₃	1	2,35	2,349	0,06	0,805
MS*AIA	1	56,87	56,873	1,50	0,229
MS*AG ₃	1	32,50	32,504	0,86	0,361
AIA*AG ₃	1	42,29	42,292	1,12	0,299
MS*AIA*AG ₃	1	61,01	61,012	1,61	0,213
Error	32	1211,82	37,869		
Total	39	1548,36			

Anexo 6. Análisis de varianza para la formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MS	1	5,840	5,8403	2,73	0,108
AIA	1	0,442	0,4425	0,21	0,652
AG ₃	1	3,483	3,4829	1,63	0,211
MS*AIA	1	15,409	15,4095	7,20	0,011
MS*AG ₃	1	15,290	15,2903	7,14	0,012
AIA*AG ₃	1	39,949	39,9493	18,66	0,000
MS*AIA*AG ₃	1	2,694	2,6939	1,26	0,270
Error	32	68,518	2,1412		
Total	39	151,626			

Anexo 7. Análisis de varianza de la germinación *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MS	1	109,28	109,279	3,17	0,084
AIA	1	21,88	21,884	0,64	0,431
AG ₃	1	53,91	53,908	1,57	0,220
MS*AIA	1	30,40	30,400	0,88	0,355
MS*AG ₃	1	140,42	140,420	4,08	0,052
AIA*AG ₃	1	2,76	2,759	0,08	0,779
MS*AIA*AG ₃	1	4,01	4,010	0,12	0,735
Error	32	1102,22	34,444		
Total	39	1464,88			

Anexo 8. Análisis de varianza para la formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
MS	1	31,984	31,984	1,93	0,174
AIA	1	69,086	69,086	4,18	0,049
AG ₃	1	0,022	0,022	0,00	0,971
MS*AIA	1	82,042	82,042	4,96	0,033
MS*AG ₃	1	110,132	110,132	6,66	0,015
AIA*AG ₃	1	29,705	29,705	1,8	0,190
MS*AIA*AG ₃	1	28,312	28,312	1,71	0,200
Error	32	529,084	16,534		
Total	39	880,367			

Anexo 9. Evaluación de tukey ($p < 0.05$) para la de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, en interacción de MS y AIA, a los 70 días después de la siembra.

MS*AIA	N	Media	Agrupación	
50 0,5	10	2,42223	A	
100 1,0	10	1,44766	A	B
50 1,0	10	0,97053	A	B
100 0,5	10	0,41667		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 10. Evaluación de tukey ($p < 0.05$) por parejas MS y AG₃, para la formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

MS*AG ₃	N	Media	Agrupación	
50 1,0	10	2,60973	A	
100 1,5	10	1,25535	A	B
50 1,5	10	0,78303		B
100 1,0	10	0,60897		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 11. Evaluación de tukey ($p < 0.05$) por parejas AIA y AG₃, para la formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 70 días después de la siembra.

AIA*AG ₃	N	Media	Agrupación	
0,5 1,0	10	2,71390	A	
1,0 1,5	10	1,91338	A	B
1,0 1,0	10	0,50481	B	C
0,5 1,5	10	0,12500		C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 12. Evaluacion de tukey ($p<0.05$) por parejas MS y AIA, para la formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

MS*AIA	N	Media	Agrupación
50 0,5	10	9,30397 A	
100 1,0	10	4,88714 A	B
100 0,5	10	4,65127 A	B
50 1,0	10	2,92126	B

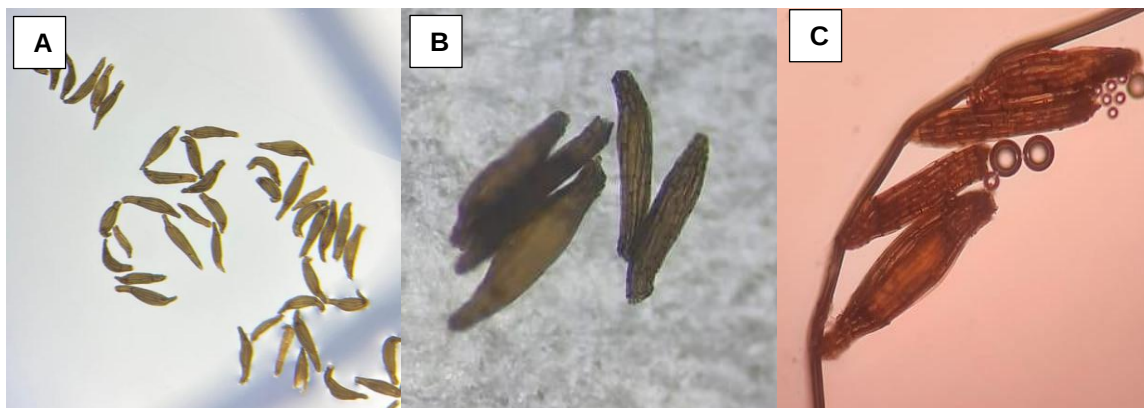
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 13. Evaluacion de tukey ($p<0.05$) por parejas MS y AG₃, para la formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, a los 90 días después de la siembra.

MS*AG ₃	N	Media	Agrupación
50 1,0	10	7,30371	A
100 1,5	10	6,45173	A
50 1,5	10	4,92153	A
100 1,0	10	3,08669	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 14. Semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.



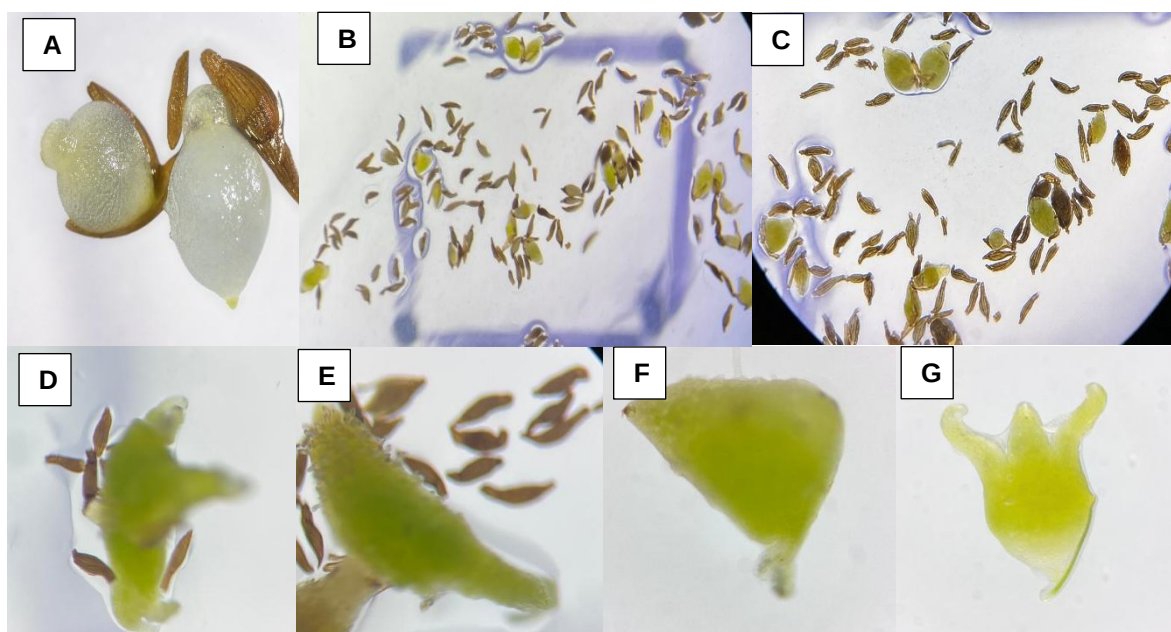
Semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. Semillas 20X, semillas 40 X, Embrion 40X

Anexo 15. Hinchazón y ruptura de testa de Semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.



Semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. A) Hinchazón del embrión 20X, B) Ruptura de la testa 20X, C) Ruptura de testa 40X

Anexo 16. Germinación y Formación de protocormos *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.



Germinación de las semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. A) germinación 40X B - C) germinación de semillas 20X, D- E) inducción de protocormos 40X, F - G) protocormo 40X

Anexo 17. *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, Centro poblado de Toccate, Anco, La Mar, Ayacucho 2025.



Orquídea *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe. A) vista desde la carretera, B) viste frontal

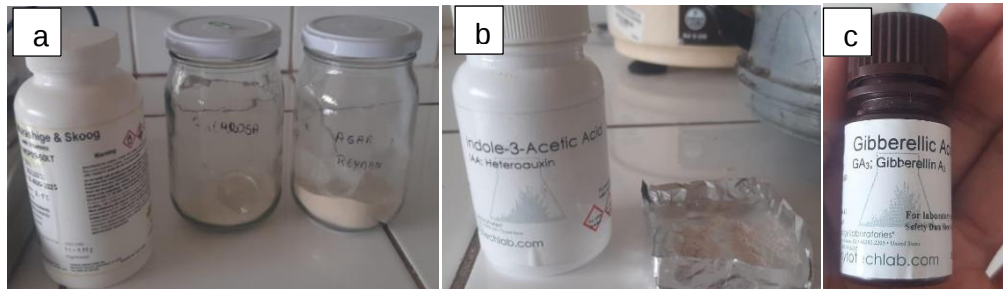
Anexo 18. Cápsulas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, del Centro poblado de Toccate, Anco, La Mar, Ayacucho 2025.



Anexo 19. Cápsulas maduras de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.

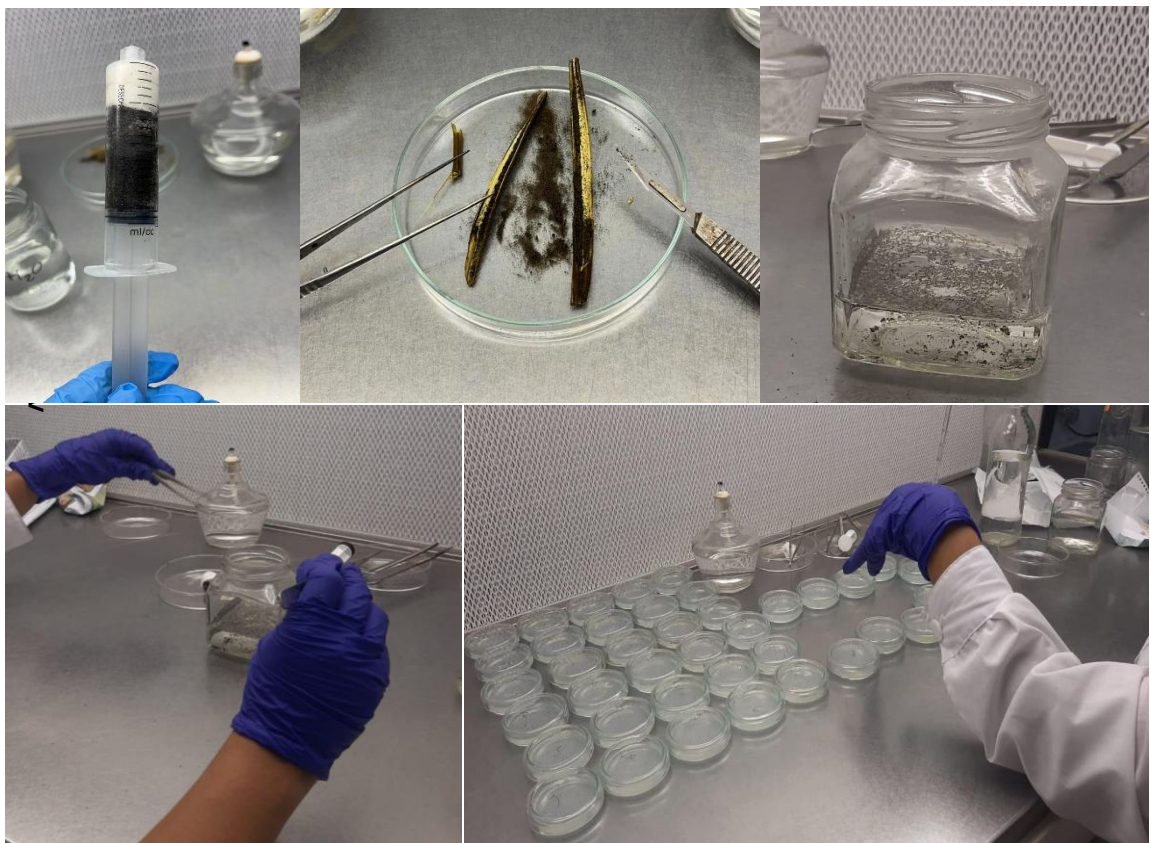


Anexo 20. Medios de cultivo y fitorreguladores

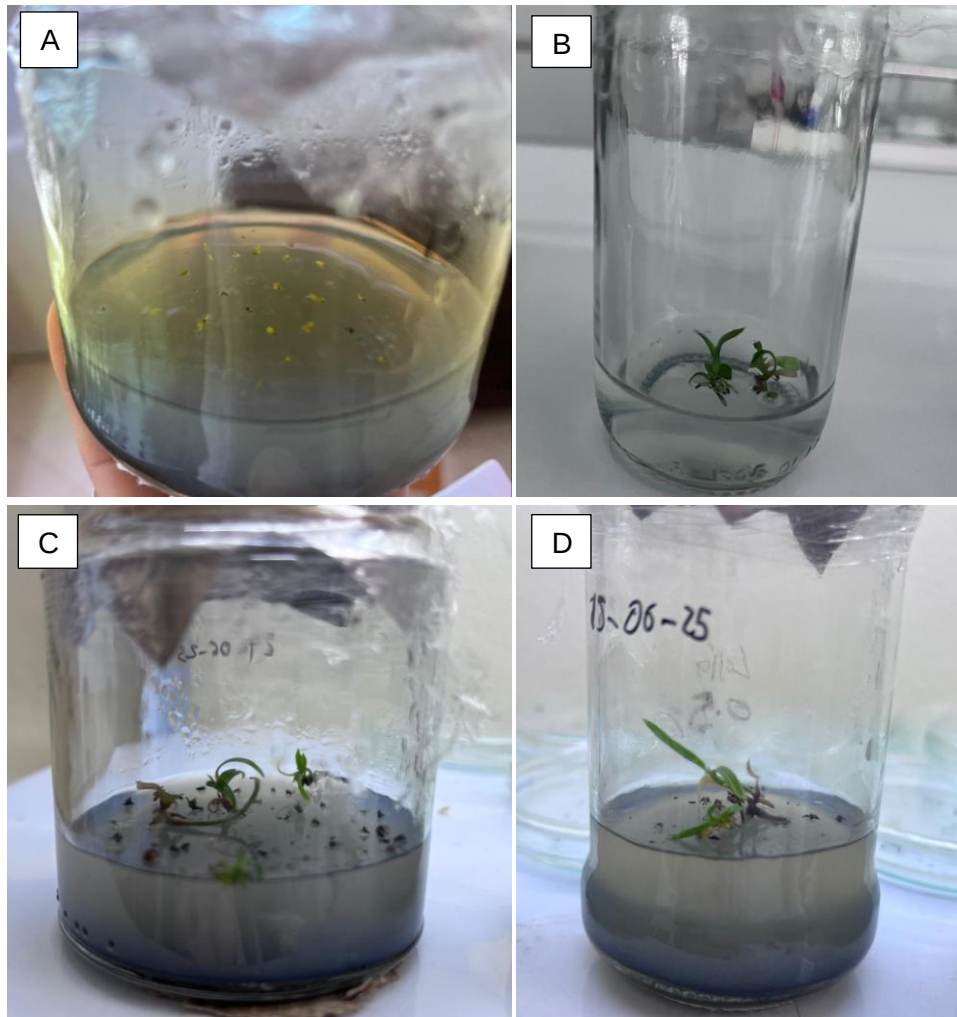


A) Medio Murashige y Skoog b) Ácido indolacético (AIA), c) Ácido giberélico (AG₃)

Anexo 21. Desinfección de la semilla y siembra *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, laboratorio de Biotecnología de la UNSCH, Ayacucho 2025.

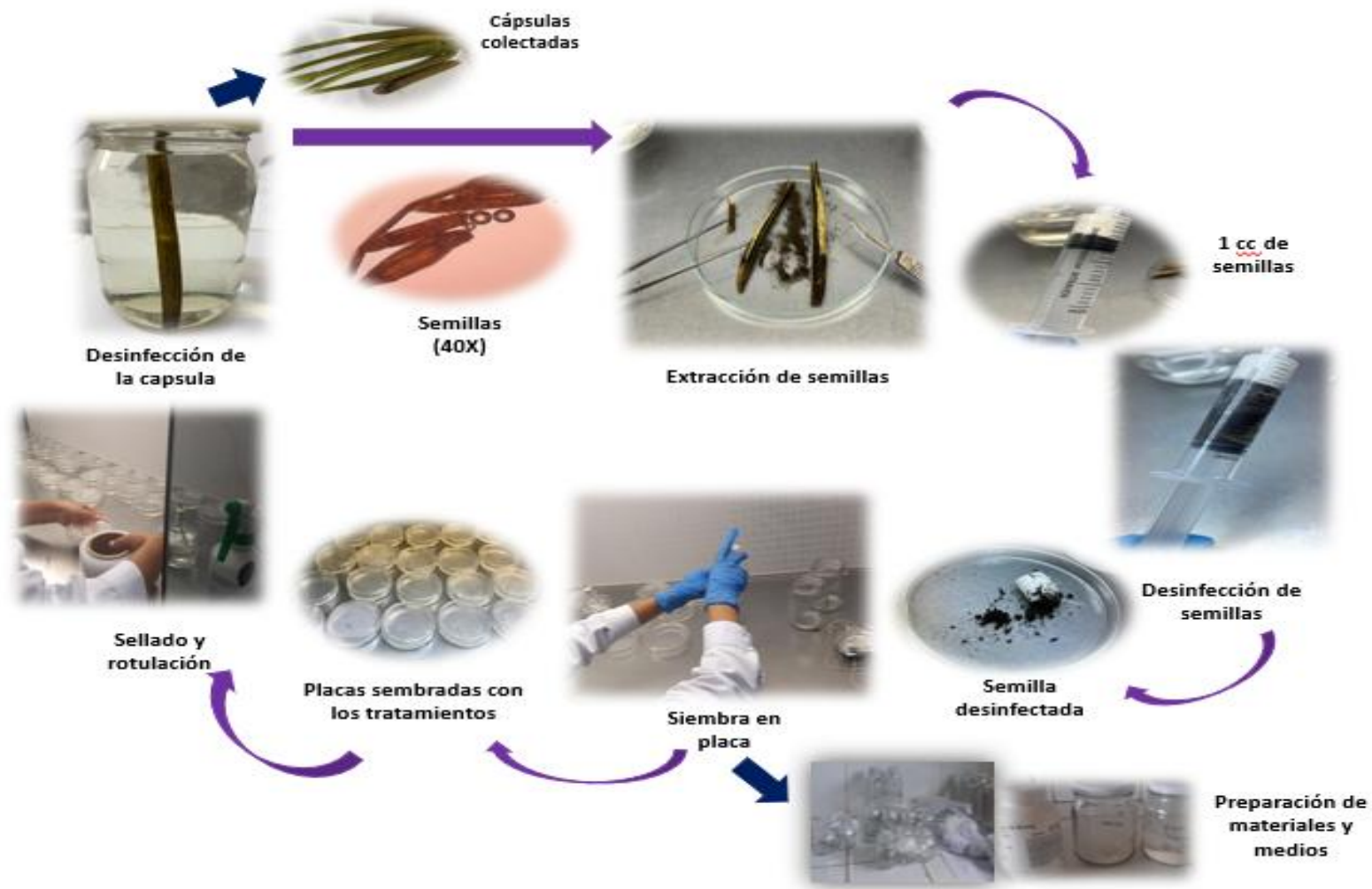


Anexo 22. Protocormos de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe transferidos a un medio de cultivo con carbón activado

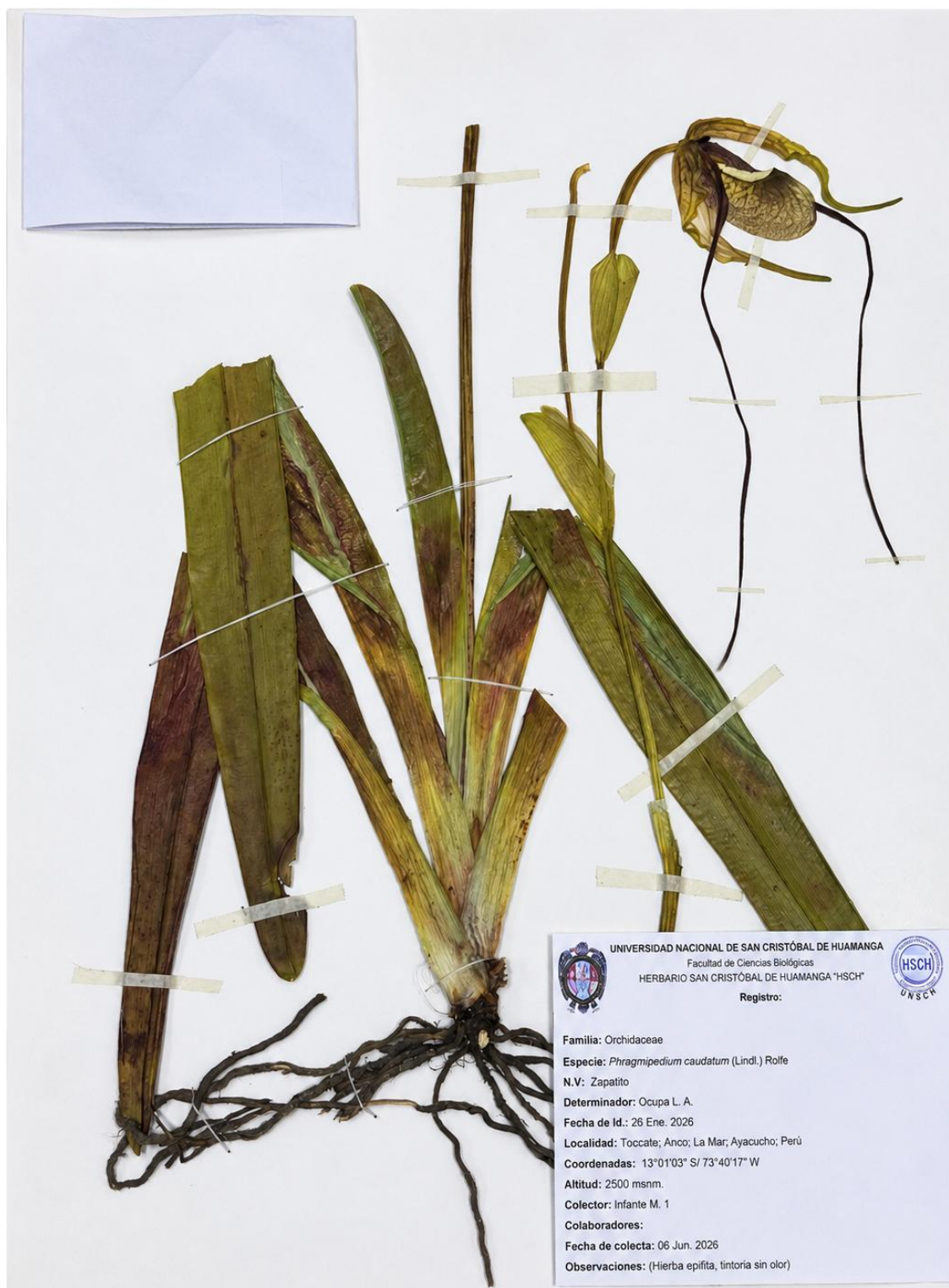


A) Protocormos a 100 días después de la siembra. B) Formación de órganos axiales. C - D) Formación de órganos axiales en medio con carbón activado.

Anexo 23. Protocolo para la siembra de las semillas de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, en medio de cultivo *in vitro*



Anexo 24. Depósito en el Herbario San Cristóbal de Huamanga.



CONSTANCIA

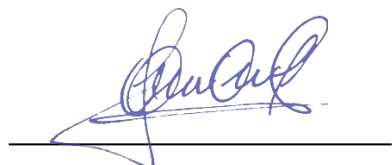
Yo, **Luis Antonio Ocupa Horna**, identificado con DNI N.º 47263028 y RENACYT IV—P0160193, botánico especialista en taxonomía de Orchidaceae, dejo constancia a título personal, para fines estrictamente académicos y científicos, que he realizado la revisión taxonómica, evaluación nomenclatural y verificación de la identificación de la(s) especie(s) de orquídea(s) registradas por la tesista **Marcia Fernanda Infante Coras**.

La presente revisión se efectuó en el marco del desarrollo de la tesis titulada: **“Efecto del medio MS y dos fitorreguladores en la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, Ayacucho 2024”**.

Familia	Orchidaceae
Nombre científico	<i>Phragmipedium caudatum</i> (Lindl.) Rolfe
Hábito	Hierba epífita
Localidad	Departamento Ayacucho, provincia La Mar, distrito Anco-La Mar, Toccate, borde de la carretera
Coordenadas geográficas	13°01'03" S; 73°40'17" O
Altitud	2500 m s.n.m.
Fecha de colecta	6 julio 2025

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

En Lima, 26 de enero del 2026.



Luis Antonio Ocupa Horna

Botánico – Especialista en Taxonomía de Orchidaceae
Investigador asociado, Herbario PRG, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
luisocupahorna@gmail.com
ORCID, ResearchGate, Scholar Google



UNSCH

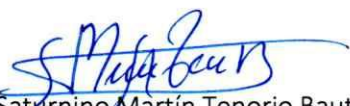
FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Marcia Fernanda INFANTE CORAS
RESOLUCIÓN DECANAL N° 087-2026-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde con cuatro minutos del día viernes diecinueve de junio del año dos mil veintiséis se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio del Centro Cultural de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, actuando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista y como miembros jurados Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua, Mg. Rebelino Acuña Martínez, Dra. Marta Romero Viacava y el Mg. Reynan Condor Alarcón miembro asesor, actuando como secretaria docente encargada la Mg. Silvia Yessica Berrospi Huilca con Memorando N° 113-2026-UNSCH(IN)-FCB con fecha dieciocho de junio del año dos mil veintiséis; para presenciar la sustentación de tesis titulada: Efecto del medio MS y dos fitorreguladores en la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, Ayacucho 2024, presentado por la Bach. Marcia Fernanda INFANTE CORAS; el presidente luego de verificar los documentos que dan fe al acto público académico, indicó a la sustentante que cuenta con un tiempo no mayor a cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como se establece en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Después de la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado evaluador 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 del Centro Cultural 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	17	18	18
Mg. Rebelino Acuña Martínez	17	17	17
Dra. Marta Romero Viacava	17	18	18
PROMEDIO			18

La sustentante alcanzó el promedio de 18 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público asistente al Auditorio del Centro Cultural de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, el presidente dio a conocer el resultado indicando que de este modo ha concluido el presente acto académico, firmando al pie de dicho documento en señal de conformidad.


Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista
Presidente


Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua
Miembro - jurado


Mg. Rebelino Acuña Martínez
Miembro - jurado


Dra. Marta Romero Viacava
Miembro - jurado


Mg. Reynan Condor Alarcón
Miembro - asesor


Mg. Silvia Yessica Berrospi Huilca
Secretaria Docente (e)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA-ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 42-2026-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 del medio MS y dos fitorreguladores en la germinación y formación de protocormos *in vitro* de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, Ayacucho 2024**, por MARCIA FERNANDA INFANTE CORAS; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 10%, 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 Nº 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, 25 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 del medio MS y dos fitorreguladores en la germinación y formación de protocormos in vitro de *Phragmipedium caudatum* (Lindl.) Rolfe, Ayacucho 2024

por MARCIA FERNANDA INFANTE CORAS

Efecto del medio MS y dos fitorreguladores en la germinación y formación de protocormos in vitro de Phragmipedium caudatum (Lindl.) Rolfe, Ayacucho 2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%	10%	3%	4%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	3%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
3	www.scielo.org.co	1%
	Fuente de Internet	
4	repositorio.serfor.gob.pe	1%
	Fuente de Internet	
5	es.wikipedia.org	1%
	Fuente de Internet	
6	revistas.unsm.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
7	orbi.uliege.be	<1%
	Fuente de Internet	
8	alicia.concytec.gob.pe	<1%
	Fuente de Internet	
9	docslib.org	<1%
	Fuente de Internet	
10	dspace.utb.edu.ec	<1%
	Fuente de Internet	
11	boletin.invemar.org.co	<1%
	Fuente de Internet	
12	Campbell, Samantha Eryn Mei. "Effects of Sterilization Methods on Methacrylated Hyaluronic Acid Hydrogel Microneedles.", Purdue University	<1%
	Publicación	
13	aprenderly.com	<1%
	Fuente de Internet	

Excluir citas
Excluir bibliografía

Activo
Activo

Excluir coincidencias

< 30 words