



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>





PROYECTO:

“Propagación masiva de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) mediante un sistema de biorreactores de inmersión temporal en San Martín, Perú”



Autor: Ing. M.Sc. Geomar Vallejos Torres

Colaboradores: Ing. M.Sc. Mike A. Corazon Guivin
Ing. M.Sc. Harry Saavedra Alva
Ing. Agron. Wilmar Murrieta Vela

San Martín, 2020

Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres: Geomar Vallejos Torres	
Código de alumno :	Teléfono: 956477477
Correo electrónico : gvallejos@unsm.edu.pe	DNI: 01162440

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Datos Académicos

Facultad de: CIENCIAS AGRARIAS
Escuela Profesional de: AGRONOMIA

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	()	Trabajo de investigación	(X)
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos del Trabajo de investigación

Título : Desarrollo de Plántulas in Vitro de Cattleya sp. y Phalaenopsis sp. Orquídeas de Amplio Valor Comercial en Perú
Año de publicación:

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(X)	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital.

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12º del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.



Firma y huella del Autor

8. Para ser llenado en el Repositorio Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto de la UNSM - T.

Fecha de recepción del documento.

07 / 10 / 2020



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - T.
Repositorio Digital de Ciencia, Tecnología e
Innovación de Acceso Abierto - UNSM-T.

Ing. M. Sc. Alfredo Ramos Perca
Responsable

***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

** **Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

I. INTRODUCCION

Todas las orquídeas conforman la familia botánica Orchidaceae, siendo una de las familias más diversas con cerca de 30 000 especies distribuidas en el mundo. En el Perú, las orquídeas cuentan con 212 géneros y cerca de 2 206 especies (MINAM, 2015), estas orquídeas tienen un valor comercial importante, la gran mayoría son reproducidas artificialmente. La creciente demanda de especies de orquídeas de gran valor comercial ha llevado a la búsqueda de la producción de plántulas de alta calidad (con homogeneidad, genética y control fitosanitario) en un corto período de tiempo, a través de herramientas biotecnológicas. Por esta razón, la propagación *in vitro* ha demostrado ser un método altamente efectivo para la producción de un gran número de plantas (Georgieva et al. 2016).

La Universidad Nacional de San Martín, cuenta con un Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales donde se vienen multiplicando material vegetal de diversas especies como orquídeas, especies forestales, plantas medicinales, cultivos agrícolas, etc.

Aplicando la tecnología tradicional, no ha logrado ser una institución competitiva en el ámbito científico y productivo, viéndose limitado con una baja producción de material vegetal, generando escasos aportes científicos y por ende un débil fortalecimiento institucional y formación de jóvenes profesionales con pocos conocimientos tecnológicos en la producción masiva de orquídeas y otras especies. El Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Facultad de Ciencias Agrarias tiene 22 años de funcionamiento, donde se ha venido realizando diversas actividades con los estudiantes, egresados y personas interesadas en el cultivo *in vitro*, para lo cual se han desarrollado Tesis de pregrado y postgrado, prácticas profesionales, investigación y capacitación.

En el presente estudio, se evaluó el desarrollo de plántulas *in vitro* de *Cattleya* sp. y *Phalaenopsis* sp. Orquídeas de amplio valor comercial en Perú.

II. OBJETIVO

- 2.1. Redactar y someter a publicación de artículo referente al proyecto en revista indizada en la base de SCOPUS.
- 2.2. Difundir resultados logrados durante el desarrollo del proyecto.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Sitio de estudio

Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales – LCTV: (06° 29' 13,2" N; 76° 22' 48,4" W), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, región de San Martín, Perú, entre los meses de setiembre de 2019 a junio de 2020. Este sitio está ubicado a una altitud de 350 msnm, con una temperatura promedio y una precipitación mensual de 24.6 °C y 63.1 mm, respectivamente, y con una humedad relativa promedio de 45 %.

3.2. Artículo sometido

El artículo fue sometido a La Revista de Biología Tropical / International Journal of Tropical Biology and Conservation, considerado como una revista científica convencional publicada desde 1953 y cubierta por Web of Science; Índice de citas de ciencia; Contenidos actuales; Google Académico; Scopus, SciELO y casi 50 índices adicionales. Un sistema doble ciego le garantiza una evaluación justa, y nuestros consejos editoriales y científicos de clase mundial brindan una primera decisión en tres días hábiles. La revista es Full Open Access y se lee ampliamente donde su artículo puede tener el mayor impacto real. Desde su comienzo en 1953, la Revista sigue estos principios: evaluación objetiva e independiente de todos los manuscritos; transparencia en todos los procesos; uso ético de procedimientos, datos, muestras y temas; trato justo de todas las partes;

Alto impacto real, no solo por su tasa de citas, sino también porque se lee ampliamente en países con la mayor biodiversidad, donde su artículo puede tener el mayor impacto en la conservación de la biodiversidad tropical.

3.3. Difusión de resultados

Se realizó la difusión de resultados mediante del Proyecto: “Desarrollo de plántulas in vitro de *Cattleya* sp. y *Phalaenopsis* sp. Orquídeas de amplio valor comercial en Perú”.

Evento Vía CiscoWebex:

Realizado con fecha: viernes, 10 jul., 2020 10:00 am

Número de reunión: 160 500 3023

IV. RESULTADOS

4.1. Envío de artículo a la Revista: Biología Tropical



4.2. Artículo sometido a revista

Desarrollo de plántulas *in vitro* de *Cattleya* sp. y *Phalaenopsis* sp. Orquídeas de amplio valor comercial en Perú

Geomar Vallejos-Torres^{1*} Orlando Ríos-Ramírez¹, Harry Saavedra-Alva¹, Jorge M. Navarro-Reátegui¹ y Wilmar Murrieta-Vela¹

1. Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ciencias Agrarias (UNSM) – Tarapoto, Jr. Maynas N° 177, Tarapoto, San Martín, Perú; gvallejost@gmail.com.pe, orios@unsm.edu.pe, hsaavedraa@unsm.edu.pe, jorgemaxnavarro@gmail.com.pe, wimuve2015@gmail.com.pe

*Correspondencia

Abstract.

Introduction: In vitro culture is the successful way for the massive propagation of orchids. **Objective:** To evaluate the development of in vitro seedlings of *Cattleya* and *Phalaenopsis*, in such a way that we can obtain seedlings in quantity and quality in a timely manner of orchids of wide commercial value. **Methods:** from September 2019 to June 2020, we evaluated the in vitro development of *Cattleya* and *Phalaenopsis* in three time periods of 90, 180 and 270 days in the province and region of San Martín- Peru. The design used was the simple factorial design. The capsules were disinfected with a 1% NaOCL solution for 20 minutes. The seeds were sown in a basal culture medium, in the permanent quality the seeds were increased for approximately 30 days, when they were on the protogram they were transferred to a medium 10 for about 90

days, to then pass them to another culture medium (medium 20) seedlings take optimal shape, size and development. The 15-ounce glass vials used contained 60 ml of culture media previously, then incubated in a growth room at 21 ± 3 ° C, 65% relative humidity and a 16-h photoperiod provided by fluorescent and 8 hours of darkness, controlled with time. Results: The development of *in vitro* seedlings of the *Cattleya* genus evaluated at 270 days, resulted in an average of 2.25 shoots, 3.04 cm of leaf length, 0.25 cm in leaf width, 4.0 roots, 5.3 cm in root length and 3.88 cm in seedling height and an average of 1.13 shoots, 3.58 cm in leaf length, 1.16 cm in leaf width, 5.38 roots, 3.51 cm in root length and 4.12 cm in seedling height for the *Phalaenopsis* genus. With a survival of over 75% at all times evaluated for both genus of orchids. Conclusions: *Phalaenopsis* and *Cattleya* enables mass production of seedlings *in vitro* and their validation for successful production for nurseries that promote the business of these valuable orchids.

Key words: outbreaks; genders; spread; survival; San Martin; seeds

Total de palabras: 3905

Todas las orquídeas conforman la familia botánica Orchidaceae, siendo una de las familias más diversas con cerca de 30 000 especies distribuidas en el mundo. En el Perú, las orquídeas cuentan con 212 géneros y cerca de 2 206 especies (MINAM, 2015), estas orquídeas tienen un valor comercial importante, la gran mayoría son reproducidas artificialmente. La creciente demanda de especies de orquídeas de gran valor comercial ha llevado a la búsqueda de la producción de plántulas de alta calidad (con homogeneidad, genética y control fitosanitario) en un corto período de tiempo, a través de herramientas biotecnológicas. Por esta razón, la propagación *in vitro* ha demostrado ser un método altamente efectivo para la producción de un gran número de plantas (Georgieva et al. 2016).

Cattleya y *Phalaenopsis* son dos grandes géneros de especies de orquídeas importantes y se cultiva para producción comercial de flores en macetas, debido a sus coloridas y hermosas flores de gran tamaño, forma, color el género. *Phalaenopsis* es originario de la isla de Borneo (Gnasekaran et al. 2010), mientras que el género *Cattleya*, nativo de Central y América del Sur, ocurre a lo largo de cadenas montañosas, bosques secos y la transición a laderas y cañones húmedos y nublados, principalmente en árboles y rocas (Calderón 2007).

Es ampliamente reconocido que la producción de *Cattleya* y *Phalaenopsis* producidas en maceteros ha aumentado enormemente en los últimos años (Griesbach, 2002), siendo difícil propagar *Phalaenopsis* asexualmente en condiciones naturales (Tsai y Chu, 2001). Propagación por plántulas es el método principal para la producción en masa en la actualidad. Es así que la propagación de ambas especies está fuertemente influenciada por la composición mineral del medio de cultivo y su interacción con aditivos de nutrientes orgánicos (Chen et al. 2015; Fallahpour et al. 2015). Se han establecido protocolos de germinación de semillas *in vitro* para muchas especies de orquídeas, y se han utilizado varios medios y sales para la germinación y propagación (Paul et al. 2012; Teixeira da Silva, 2013). En el presente estudio, se evaluó el desarrollo de plántulas *in vitro* de *Cattleya* sp. y *Phalaenopsis* sp. Orquídeas de amplio valor comercial en Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio: Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales – LCTV: (06° 29' 13,2" N; 76° 22' 48,4" W), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, región de San Martín, Perú, entre los meses de setiembre de 2019 a junio de 2020. Este sitio está ubicado a una altitud de 350 msnm, con una temperatura

promedio y una precipitación mensual de 24.6 °C y 63.1 mm, respectivamente, y con una humedad relativa promedio de 45 %.

Material vegetal: Las cápsulas dehiscentes de *Cattleya* y *Phalaenopsis* fueron colectadas maduras a los 5 y 6 meses respectivamente del vivero de aclimatación de la Universidad Nacional de San Martín a partir de plantas madres donadoras que fueron polinizadas manualmente. Se emplearon en total tres plantas madres para cada género. Posteriormente, las cápsulas colectadas fueron llevadas al LCTV en sobres de papel sellados para su almacenamiento antes de su esterilización y reducir la deshidratación (Balilashaki et al. 2015); las cápsulas colectadas se pusieron en una caja estéril con un agente desecante (silica gel), para evitar la excesiva humedad. (Mckendrick, 2002; Vogel y Macedo, 2011).

Preparación del medio de cultivo: El medio de cultivo utilizado fue el de Murashige y Skoog (1962), para ello se preparó un volumen inicial de 1.00 l de solución al cual se le adicionó 0.40 mg/l thiamine; 0.50 mg/l ácido nicotínico; 20.00 g/l de sacarosa, 13.50 g/l de agar-agar; 2.00 g/l carbón activado, calibrando el pH a 5.3. Estos fueron dispensados en frascos de 15 onzas a un volumen de 50 ml por frasco luego fueron tapados con papel aluminio y cubierto con papel reciclado, autoclavados a una presión de 15 lb por 15 minutos a una temperatura de 121 °C; luego se dejó enfriar a temperatura ambiente y almacenados en refrigeración a una temperatura de 24 °C.

Desinfección de las capsulas y siembra de las semillas: Las cápsulas fueron desinfectadas con una solución de NaOCl al 1 % (20 ml de lejía comercial (5,25 % NaOCI) en 100 ml de agua destilada), se colocó el material vegetal dentro la solución desinfectante por 20 minutos, se agito la solución desinfectante con la finalidad de que la solución cubra toda el área del material vegetal y las cápsulas estén libres de agentes contaminantes. Las semillas se aislaron provocando suavemente la superficie de las cápsulas de hendidura esterilizadas con bisturí y se cultivaron en el medio basal por un periodo de tiempo de 30 días aproximadamente, luego se pasaron a un medio 10 (adición de 10 % de agua de coco) por 90 días y finalmente completó los 270 días en un medio 20 (adición de 20 % de agua de coco). El medio basal conteniendo las semillas se colocaron en frascos de vidrio de 15 onzas que contenían 60 ml de medios de cultivo descritos anteriormente. Los cultivos se incubaron en una sala de crecimiento a 21±3 °C, Humedad relativa de 65 % y un fotoperiodo de 16 h proporcionado por fluorescentes y 8 horas de oscuridad, controlado con un time.

Diseño experimental y análisis de datos: Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de dos géneros de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) y tres periodos de siembra (90, 180 y 270 días) con 20 repeticiones por tratamiento. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza y sometidos a la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$ de probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre los dos tratamientos y sus interacciones. Previo al análisis, el número de raíces y número de brotes fueron transformado a $\sqrt{x+1}$ (Snedecor y Cochran 1980). Así mismo el porcentaje de sobrevivencia fue transformado mediante la fórmula $\arcsen \sqrt{x} \%$ y fueron evaluados con el estereomicroscopio y microscopio.

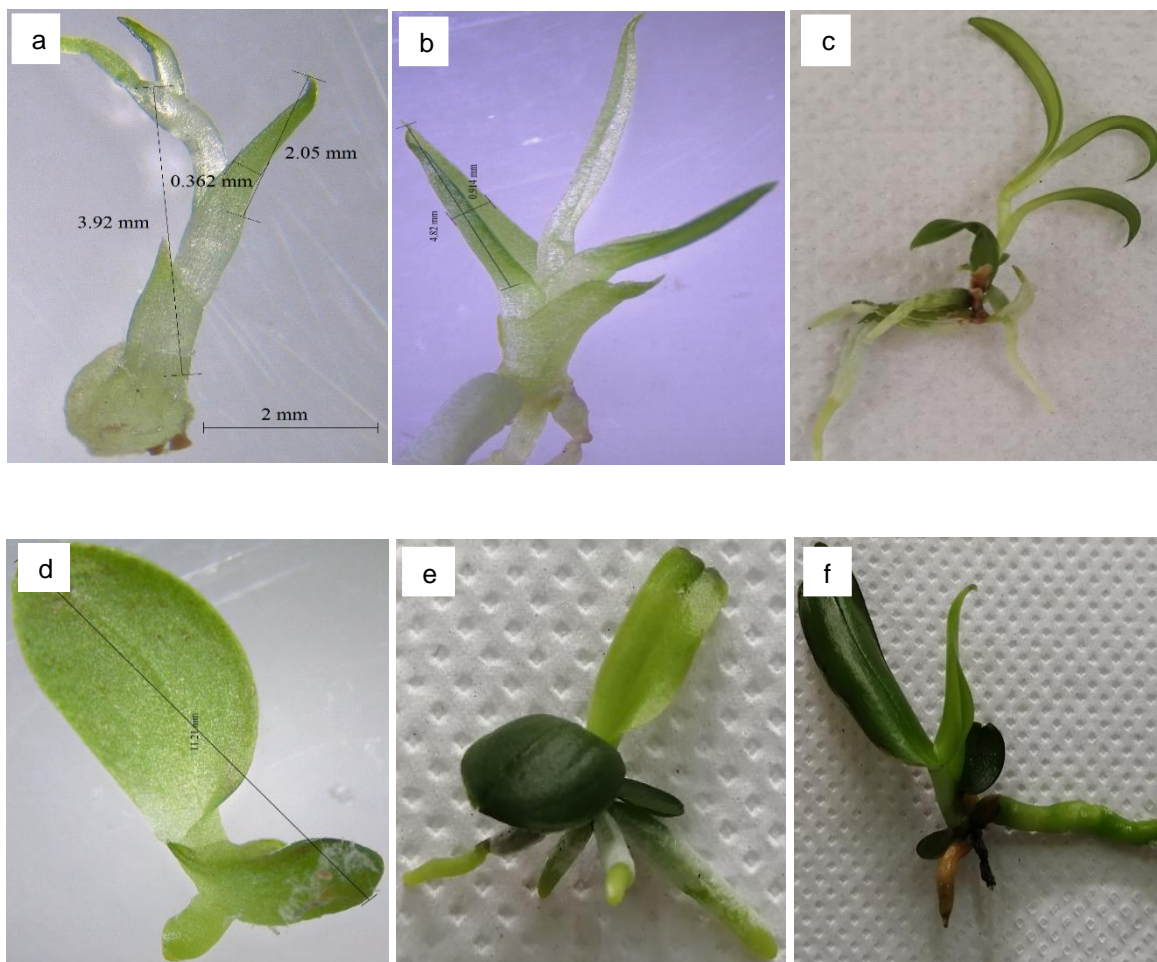


Fig. 1 Propagación *in vitro* de orquídeas: a) *Cattleya* a los 90 días; b) *Cattleya* a los 180 días; c) *Cattleya* a los 270 días; d) *Phalaenopsis* a los 90 días; e) *Phalaenopsis* a los 180 días; y f) *Phalaenopsis* a los 270 días de establecido.

RESULTADOS

Hubo diferencias significativas para todas las variables evaluadas. Para el número de brotes se puede observar que existen dos grupos, un primer grupo donde el mayor número de brotes lo obtuvo *Cattleya* evaluada a los 270 días con brotes de 2.25 y un segundo grupo sin diferencias significativas que obtuvieron promedios entre 1 a 1.44 brotes en promedio. El mismo género *Cattleya* evaluado a los 270 días mostró el mejor promedio en longitud de raíces con 5.3 cm, los otros grupos muestran diferencias significativas en todos los tiempos evaluados. El género *Phalaenopsis* mostró mejores resultados evaluados a los 270 días tanto en longitud de hoja, ancho de hoja, número de raíces y altura de plántula con promedios de 3.58, 1.16, 5.38 y 4.12 cm respectivamente (Tabla 1).

Respecto a la supervivencia se muestra que existe cuatro grupos marcadamente definidos con diferencias significativas, siendo el primer grupo conformado por *Phalaenopsis* y *Cattleya* evaluada a los 90 días donde obtuvo un 100 % de supervivencia; un segundo grupo que abarca a *Cattleya* evaluada a los 180 días con un promedio de 93.75 %; un tercer grupo conformado por *Cattleya* y *Phalaenopsis* evaluada a los 270 y 180 días con promedios de 87.5 % de supervivencia para ambos, siendo el promedio más bajo que se obtuvo en el cuarto grupo con 75 % de supervivencia (Tabla 1).

Tabla 1 Efecto de la interacción de los factores *Cattleya* y *Phalaenopsis* sobre la propagación *in vitro* por semilla, evaluados a los 90, 180 y 270 días.

Géneros de orquídeas	Tiempo en días	Número de brotes	Longitud de hoja (cm)	Ancho de hoja (cm)	Número de raíces	longitud raíz (cm)	Altura plántula (cm)	Supervivencia (%)
<i>Cattleya</i>	90	1 b	0.25 e	0.04 d	0 e	0 e	0.64 e	100 a
<i>Cattleya</i>	180	1.44 b	0.98 d	0.09 d	2.06 c	1.72 c	2.03 cd	93.75 b
<i>Cattleya</i>	270	2.25 a	3.04 b	0.5 b	4 b	5.3 a	3.88 b	87.5 c
<i>Phalaenopsis</i>	90	1 b	1.03 d	0.36 c	1.12 d	0.39 d	1.5 de	100 a
<i>Phalaenopsis</i>	180	1.06 b	2.02 c	0.57 b	3.63 b	1.58 c	2.46 c	87.5 c
<i>Phalaenopsis</i>	270	1.13 b	3.58 a	1.16 a	5.38 a	3.51 b	4.12 a	75 d
C.V (%)		9.73	5.32	12.27	5.75	7.32	11	4.76
Promedio		1.32	1.76	0.45	2.7	2.08	2.44	90.62

Prueba de Tukey ($p < 0.05$). Promedios seguidos de diferentes letras, indican diferencias estadísticamente significativas.

El desarrollo de plántulas *in vitro* del género *Cattleya* evaluado a los 270 días, dio como resultado un promedio de 2.25 brotes y un promedio de 1.13 brote para el género *Phalaenopsis*. En contraste, tanto *Cattleya* como *Phalaenopsis* evaluado a los 90 días mostraron promedios de brotes de 1. El desarrollo de plántulas *in vitro* del género *Phalaenopsis* evaluado a los 270 días, dio como resultado un promedio de 3.58 cm de longitud de hoja y un promedio de 3.04 cm para el género *Cattleya*. Tanto *Cattleya* como *Phalaenopsis* evaluado a los 90 días mostraron promedios en longitud de hoja de 0.25 y 1.03 cm respectivamente. Para el ancho de la hoja del género *Phalaenopsis* evaluado a los 270 días, dio como resultado un promedio de 1.15 cm en ancho de hoja y un promedio de 0.50 cm para el género *Cattleya*. Tanto *Cattleya* como *Phalaenopsis* evaluado a los 90 días mostraron promedios en ancho de hoja de 0.04 y 0.36 cm respectivamente. El género *Phalaenopsis* evaluado a los 270 días, dio como resultado un promedio de 4.12 cm en altura de plántula y un promedio similar para el género *Cattleya* de 3.88 cm. En contraste, tanto *Cattleya* como *Phalaenopsis* evaluado a los 90 días mostraron promedios de altura en plántulas de 0.64 y 1.5 cm respectivamente (Fig. 2). El género *Cattleya* evaluado a los 270 días, dio como resultado un promedio de 5.3 cm en longitud de raíz y un promedio de 3.51 cm para el género *Phalaenopsis*. El desarrollo de plántulas *in vitro* del género *Phalaenopsis* evaluado a los 270 días, dio como resultado un promedio de 5.38 raíces y un promedio de 4.0 raíces para el género *Cattleya* (Fig. 3). Respecto a la supervivencia, se muestra que para ambos géneros de orquídeas evaluadas a los 90 días hubo un 100 %, esto fue cayendo conforme el transcurrir del tiempo, tanto es así que, a los 270 días ambas especies obtuvieron valores superiores al 75% de supervivencia (Fig. 4).

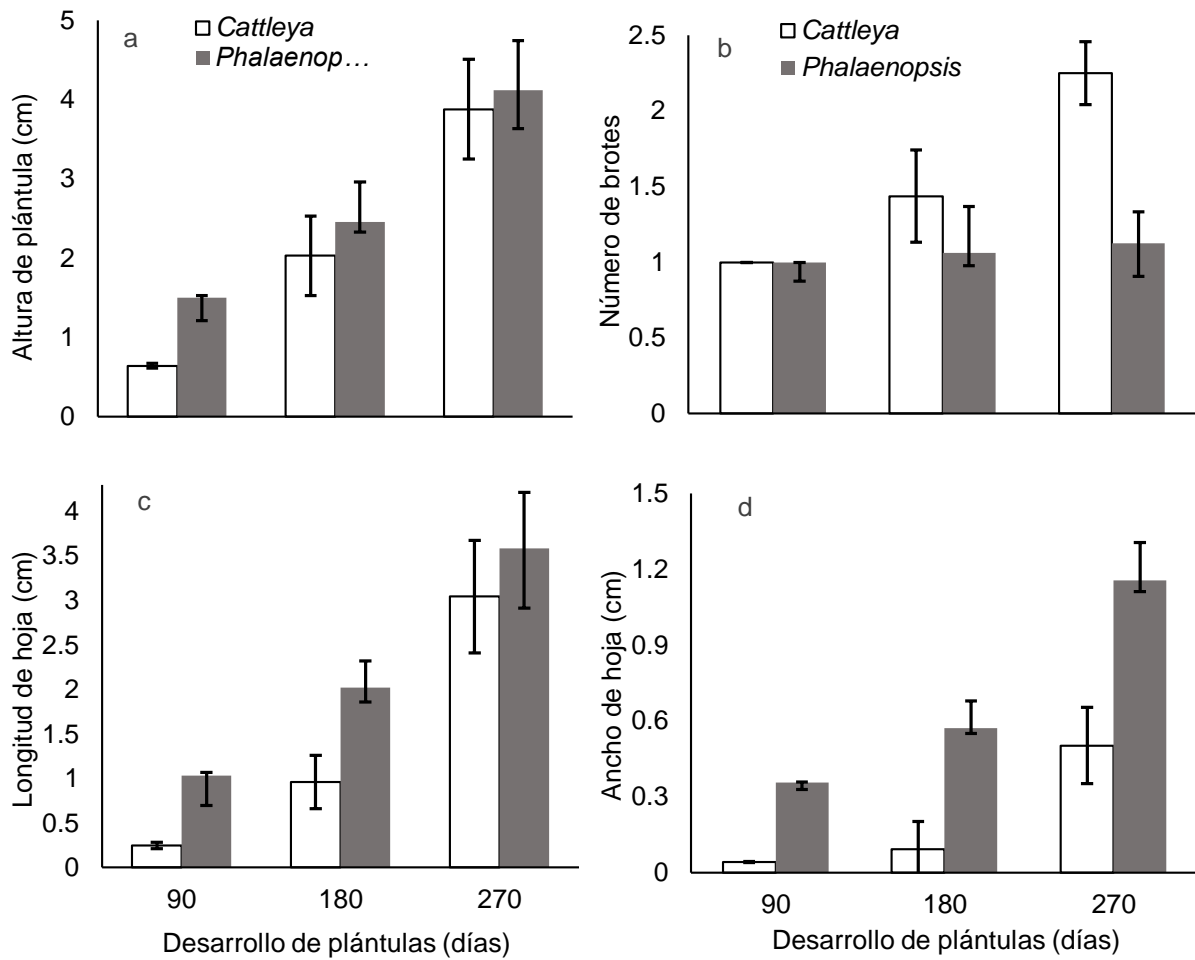


Fig. 2 Variables morfológicas de orquídeas evaluadas *in vitro* formada como efecto de dos géneros de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) en diferentes tiempos (90, 180 y 270 días): a) Altura de plántula (cm); b) Número de brotes; c) Longitud de hoja (cm) y d) Ancho de hoja (cm).

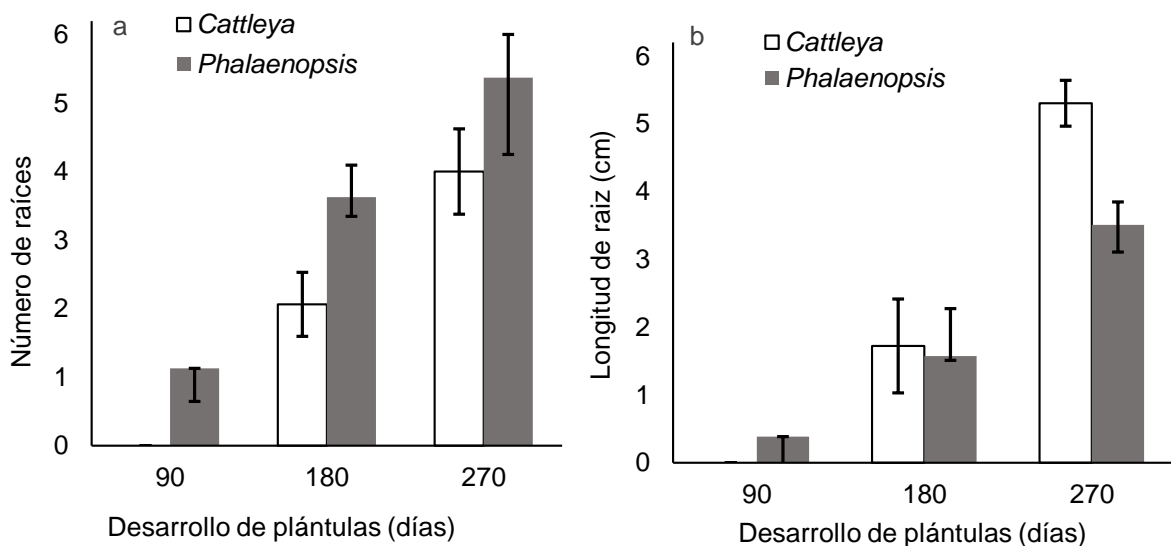


Fig. 3 Variables radiculares de orquídeas evaluadas *in vitro* formada como efecto de dos géneros de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) en diferentes tiempos (90, 180 y 270 días): a) Número de raíces y b) Longitud de raíz (cm).

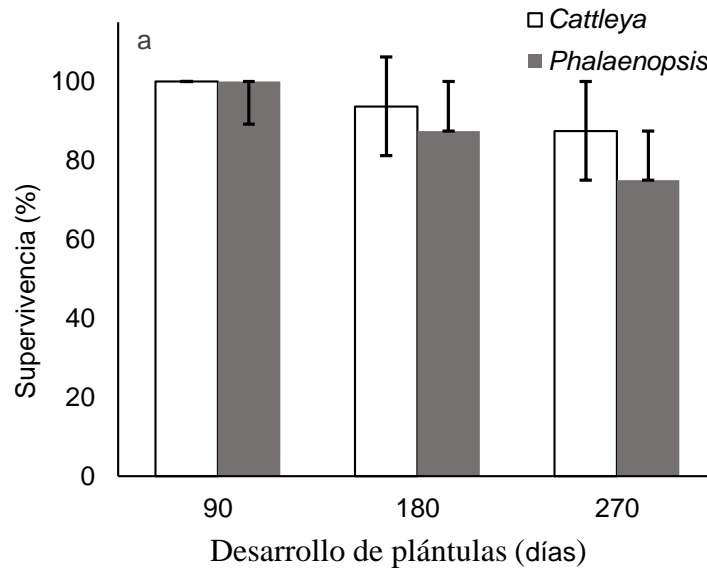


Fig. 4 Supervivencia (%) de orquídeas evaluadas *in vitro* formada como efecto de dos géneros de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) en diferentes tiempos (90, 180 y 270 días):

DISCUSIÓN

La germinación alcanzada por *Cattleya* fue de 90.33 % y para *Phalaenopsis* fue de 89.66 %, evaluada a los 10 días después de la siembra, considerándose cuando el embrión absorbió agua e incrementó su circunferencia y longitud, llegando a romper la testa (Flores-Escobar et al. 2011). El MS empleado fue el medio ideal para ambas especies porque su composición que incluye nitrato de amonio proporciona la misma proporción de amonio y nitrato a las semillas (Murashige & Skoog 1962).

El número de brotes para *Cattleya* a los 270 días se vio influenciado por el tiempo y el medio de cultivo empleado. Nongrum et al. (2007) y Abbas et al. (2011), afirmaron que la adición de componentes orgánicos al medio de cultivo ejerce un efecto benéfico en la germinación y el desarrollo de tejidos celulares, formando plántulas de *Coelogyne ovalis* y *Grammatophyllum scriptum*. En concordancia a lo dicho, se puede observar géneros mejores resultados exitosos evaluado en los tres periodos de tiempo; es así que el medio el tiempo de evaluación y el medio de cultivo empleado para el crecimiento de las plántulas fue el adecuado (Stenberg y Kane, 1998; cf. Jayarama Reddy, 2008). El tiempo de 270 días es propicio para la producción de raíces para ambos géneros de orquídeas, esto permite que haya una mayor supervivencia de plántulas y por ende un mayor prendimiento durante el proceso de aclimatación, a su vez el efecto positivo del medio de cultivo sobre la longitud de raíces, pudo deberse a parte del tiempo, a que el carbón activado fomenta una mayor aireación, que se presenta no solo en la propagación de orquídeas sino también en otras especies (Nhut et al. 2008).

Las plantas de orquídeas entre 3.88 a 4.12 cm son indicadores para su proceso de aclimatación. Las fases del desarrollo de *Cattleya* y *Phalaenopsis* fueron muy variables en los medios en el transcurso de los 270 días de establecido *in vitro*, las plántulas de *Cattleya* (5-6 cm) fueron cosechadas de cultivos y lavadas a fondo con estéril agua y trasplantadas en bandejas de espuma para su aclimatación (Hassan Dewir et al. 2015). La elección del medio de cultivo afectó fuertemente la germinación, presumiblemente debido a las diferencias en el equilibrio y el suministro de productos orgánicos e inorgánicos (Paul et al. 2012). La presencia del nitrato de

amonio en el medio MS puede explicar influye mucho en el crecimiento y el desarrollo de PLB (Paul et al. 2012). Además, la EM contiene una mayor concentración de calcio eso es necesario para la síntesis de la pared celular y la función de la membrana, así como la señalización celular (Erfani et al. 2017). Los resultados para *Cattleya* posibilitaría la producción masiva de plántulas y su validación para una producción exitosa para los viveros que propician el negocio de estas valiosas orquídeas.

CONCLUSIONES

La creciente demanda de especies de economía importancia como las orquídeas ha llevado a la búsqueda de la producción de plántulas de alta calidad (con homogeneidad, genética y control fitosanitario) en un corto período de tiempo, a través de herramientas biotecnológicas. Con base a lo mencionado, el estudio ha demostrado la importancia que tienen el cultivo *in vitro* en la propagación de orquídeas en los géneros de *Phalaenopsis* y *Cattleya*, evaluándose variables muy importantes como el número de raíces y longitud de plántulas logradas a los 90, 180 y 270 días de establecidos el ensayo. Esta metodología permite propagar y conservar plántulas de *Phalaenopsis* y *Cattleya* a partir de semilla propagada en el vivero de orquídeas de la Universidad Nacional de San Martín.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad nacional de San Martín y al Instituto de Investigación y Desarrollo, por financiar la compra de los equipos que permitieron desarrollar la investigación en el marco de las actividades del proyecto “Propagación masiva de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) mediante un sistema de biorreactores de inmersión temporal en San Martín, Perú”

RESUMEN

Introducción: El cultivo *in vitro* es la vía exitosa para la propagación masiva de orquídeas. **Objetivo:** Evaluar el desarrollo de plántulas *in vitro* de *Cattleya* y *Phalaenopsis*, de tal manera nos permita obtener plántulas en cantidad y calidad en el tiempo oportuno de orquídeas de amplio valor comercial. **Métodos:** De setiembre 2019 a junio 2020, evaluamos el desarrollo *in vitro* de *Cattleya* y *Phalaenopsis* en tres periodos de tiempo de 90, 180 y 270 días en la provincia y región de San Martín- Perú. El diseño usado fue el diseño factorial simple. Las cápsulas se desinfectaron con una solución de NaOCL al 1 % por 20 minutos. Las semillas fueron sembradas en un medio de cultivo basal, en la cual permanecieron las semillas por 30 días aproximadamente, cuando estuvieron en protocormos se transfirieron a un medio 10 por unos 90 días, para luego pasarlas a otro medio de cultivo (medio 20) donde las plántulas tomar forma, tamaño y desarrollo óptimo. Los frascos utilizados fueron de de vidrio de 15 onzas que contenían 60 ml de medios de cultivo descritos anteriormente, luego se incubaron en una sala de crecimiento a 21 ± 3 °C, Humedad relativa de 65% y un fotoperiodo de 16 h proporcionado por fluorescentes y 8 horas de oscuridad, controlado con un time. **Resultados:** El desarrollo de plántulas *in vitro* del género *Cattleya* evaluado a los 270 días, dio como resultado un promedio de 2.25 brotes, 3.04 cm de longitud de hoja, 0.25 cm en ancho de hoja, 4.0 raíces, 5.3 cm en longitud de raíz y 3.88 cm en altura de plántula y un promedio de 1.13 brotes, 3.58 cm de longitud de hoja, 1.16 cm en ancho de hoja, 5.38 raíces, 3.51 cm de longitud de raíz y 4.12 cm en altura de plántula para el género *Phalaenopsis*. Con una supervivencia superior a los 75 % en todos los tiempos evaluados para los dos géneros de orquídeas. **Conclusiones:** *Phalaenopsis*

y *Cattleya* posibilita la producción masiva de plántulas *in vitro* y su validación para una producción exitosa para los viveros que propician el negocio de estas valiosas orquídeas.

REFERENCIAS

- Abbas, B., Heningtyas, F., Amriati, B. (2011). *In vitro* seeds germination and plantlets development of *Grammatophyllum scriptum* Lindl. (Orchidaceae). *International Research Journal of Plant Science*, 2 (5), 154-159.
- Balilashaki, Kh., Gantait, S., Naderi, R. and Vahedi, M. (2015). Capsule formation and asymbiotic seed germination in some hybrids of *Phalaenopsis*, influenced by pollination season and capsule maturity. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21(3), 341-347.
- Calderón, S.E. (2007). Libro Rojo de las Plantas de Colombia. Volumen 6. Orquídeas, Primera parte. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto Alexander von Humboldt Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Bogotá. 828 pp.
- Chen, Y., Goodale, U.M., Fan, X.L. and Gao, J.Y. (2015). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Paphiopedilum spicerianum*: An orchid with an extremely small population in China. *Global Ecology and Conservation*, 3, 367-378.
- Erfani, M., Miri, S.M. and Imani, A. (2017). *In vitro* shoot proliferation and rooting of Garnem rootstock as influenced by basal media, plant growth regulators and carbon sources. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 18(3-4), 101-109.
- Fallahpour, M., Miri, S.M. and Bouzari, N. (2015). *In vitro* propagation of Gisela 5 rootstock as affected by media and plant growth regulators. *Journal of Horticultural Research*, 23(1), 57-64.
- Flores-Escobar, G., Gil-Vásquez, I., Colinas-León, M.T. y Mata-Rosas, M. (2011). Propagación *in vitro* de la orquídea *Brassia verrucosa* Bateman EX. Lindl. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(1), 5-8.
- Georgieva, L.; Tsvetkov, I.; Georgieva, M.; Kondakova, V. (2016). Nuevo protocolo para la propagación *in vitro* de plantas de bayas por este biorreactor. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, Sofía, v.22, n.5, p.745–751.
- Gnasekaran, P., Rathinam, X., Sinniah, U. R. y Subramaniam, S. (2010). A study on the use of organic additives on the protocorm-like bodies (PLBs) growth of *Phalaenopsis violacea* orchid. *Journal of Phytology*, 2(1), 29-33.
- Hassan, Y., El-Mahrouk, M., Niranjana H. y Yoeup, K. (2015). Micropropagation of *Cattleya*: Improved *In Vitro* Rooting and Acclimatization. *Hort. Environ. Biotechnol*, 56(1), 89-93. 2015. Korean Society for Horticultural Science and Springer.
- Jayarama Reddy. (2008). *Biotechnology of orchids*; I.K. International Pvt Ltd. New Delhi.
- Kauth, P.J., Dutra, D., Johnson, T.R., Stewart, S.L., Kane, M.E. and Vendrame, W. (2008). Techniques and applications of *in vitro* orchid seed germination. p. 375-391. In: J. A. Teixeira da Silva (ed), *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues*. Global Science Books Ltd, UK.
- McKendrick, S., J. Leake, D. Taylor D. Read. (2002). Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. *New Phytologist*, 154 (1), 233-247.
- Ministerio del Ambiente. (2015). Guía de identificación de orquídeas con mayor demanda comercial. 99 p. ISBN 978-612-4174-19-3. Lima, Perú.
- Murashige T and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15, 473-497

- Nhut, D. T.; Thi, N. N.; Thank Khiet, B. L.; Quoc Luan, V. (2008). Peptone stimulates in vitro shoot and root regeneration of avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 115 (2), 124-128.
- Nongrum, L., Kumaria, S., Tandon, P. (2007). The influence of in vitro media on asymbiotic germination, plantlet development and ex vitro establishment of *Coelogyne ovalis* Lindl. and *Coelogyne nitida* (Wall. Ex Don) Lindl. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 73 (4), 205-207.
- Paul, S., Kumaria, S. and Tandon, P. (2012). An effective nutrient medium for asymbiotic seed germination and large-scale in vitro regeneration of *Dendrobium hookerianum*, a threatened orchid of northeast India. *AoB Plants*, 1 (2012): plr032. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plr032>.
- Prakash, B, Bais, RT, Singh, P and Khan, S (2013). Effect of Different pH on In vitro Seed Germination of *Vandates sellata* (Roxb.)Hook.Ex. Gan Endangered Medicinal Orchid. *Advances in Life Science and Technology* ISSN 2224-7181 (Paper) ISSN 2225-062X (Online)
- Snedecor, G.W, Cochran W.G. (1980) *Statistical methods*, 7th edn. Iowa State University Press, Iowa.
- Stenberg M.L, Kane M.E. (1998). In vitro seed germination and green house cultivation of *Encyclia boothiana* var. *erythronioides*, an endangered Florida orchid. *Lindleyana*, 13, 101-112.
- Tsai, W.T. and Chu, C.Y. (2001). The industry of *Phalaenopsis* in Taiwan. *Horticulture NCHU*, 26(1), 27-41.
- Vogel, I., Macedo, A. (2011). Influence of IAA, TDZ, and light quality on asymbiotic germination, protocorm formation, and plantlet development of *Cyrtopodium glutiniferum* Raddi., a medicinal orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 104 (2), 147-155.
- Zahara, M., Datta, A., Boonkorkaew, P. and Mishra, A. (2017). The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of *Phalaenopsis* hybrid 'Pink'. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60: e17160149.

4.3. Difusión de resultados del proyecto

Presentación de resultados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Escuela Académico Profesional de Agronomía



Propagación de orquídeas en el LCTV de la UNSM

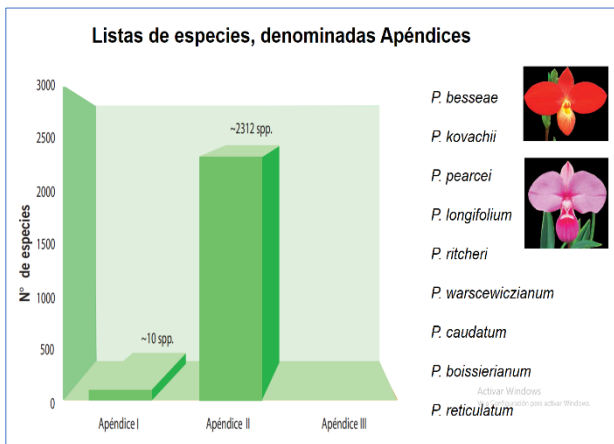
Ing. M. Sc. Geomar Vallejos Torres, UNSM-T
Ing. Wilmar Murrieta

San Martín, 2020

Todas las orquídeas conforman la familia botánica Orchidaceae, que es una de las familias más diversas en el mundo con cerca de 30 000 especies.

En el Perú, las orquídeas cuentan con 212 géneros y cerca de 2 206 especies (MINAM, 2015), aunque se estima que el número real podría oscilar entre 2 500-3 500 especies.

Las orquídeas tienen un valor comercial importante, y se estima que el Perú, desde su ingreso en 1975, ha comercializado cerca de 182 677 plantas vivas de orquídeas hasta 2015 (Convención sobre Comercio Internacional de Especies Amenazadas - CITES), la gran mayoría son reproducidas artificialmente.

La creciente demanda de especies de orquídeas ha llevado a la búsqueda de la producción de plántulas de alta calidad (con homogeneidad, genética y control fitosanitario) en un corto periodo de tiempo, a través de herramientas biotecnológicas.

Por esta razón, *in vitro* la propagación ha demostrado ser un método altamente efectivo para la producción de un gran número de plantas (Georgieva et al., 2016) y puede usarse para varias especies.

Una de las estrategias para el cultivo *in vitro*, está relacionado con la consistencia del **medio de cultivo y el uso de biorreactores de inmersión temporal**. Sin embargo hoy en día se emplean las técnicas comunes y tradicionales debido a que no cuentan con la tecnología científica potenciada (Camolesi et al. 2010).

Propagación masiva de especies vegetales mediante un sistema de biorreactor de inmersión temporal

El objetivo principal de la aplicación de biorreactores es proporcionar **condiciones de crecimiento adecuadas mediante el ajuste de parámetros físicos y químicos** para obtener la máxima calidad y cantidad de plantas deseadas (Preil et al., 2005)

Hoy en día la comercialización y propagación masiva de muchas especies de orquídeas mediante el uso de un biorreactor de inmersión temporal es una de las formas prometedoras de rápido y continua multiplicación (Berthouly et al., 2005).




Table 1. Comparison of the different concentrations of BAP and their effects on numbers of new shoots, length of new shoots and fresh weight by explants growing in solid medium and liquid medium by TIB.

Medium	Solid Medium			Liquid medium by TIB			
	Concentrations of BAP (mg L ⁻¹)	Numbers of new shoots	Length of new shoots (cm)	Fresh weight (g)	Numbers of new shoots	Length of new shoots (cm)	Fresh weight (g)
0	3.8 b ± 0.32	2.51 ± 0.53	0.17 ± 0.005	8.66 d ± 0.33	4.06 c ± 0.06	6.63 c ± 0.08	
1	4.8 ab ± 0.24	2.9 ± 0.57	0.18 ± 0.005	10.33 c ± 0.33	5.06 a ± 0.12	7.00 c ± 0.11	
2	5.3 a ± 0.33	2.79 ± 0.36	0.19 ± 0.006	12.00 b ± 0.57	4.83 a b ± 0.08	7.90 b ± 0.30	
3	5.7 a ± 0.51	2.74 ± 0.22	0.20 ± 0.179	14.33 a ± 0.33	4.66 b ± 0.08	9.10 a ± 0.11	
F-value	4.91**	1.35 n*	1.29 n*	35.11**	21.19**	87.86**	

Values in each column represent means ± SE. Different letters within columns indicate significant differences.
 ** Means significant at 1% levels.

Ahmadian et al., 2017

Table 2. The comparison of the different concentrations of IBA and their effects on numbers of healthy roots and the length of new roots of proliferated plants from solid culture and liquid medium by TIB.

Medium	Solid Medium		Liquid medium by TIB		
	Concentrations of IBA (mg L ⁻¹)	Numbers of healthy roots	Length of new roots (cm)	Numbers of healthy roots	Length of new roots (cm)
0	1.50 b ± 0.16	4.91 c ± 0.18	4.6 a ± 0.16	6.56 a ± 0.13	
0.5	1.8 b ± 0.20	5.11 b c ± 0.21	3.4 b ± 0.16	5.9 b ± 0.18	
1	2.9 a ± 0.17	6.12 a ± 0.22	4.6 a ± 0.22	6.87 a ± 0.10	
1.5	2.6 a ± 0.16	5.59 a b ± 0.19	3.8 b ± 0.24	6.06 b ± 0.21	
F-value	13.68**	6.98**	8.76**	7.48**	

Values in each column represent means ± SE. Different letters within columns indicate significant differences.
 ** Means significant at 1% levels.

Ahmadian et al., 2017

Propagación *in vitro* de *Cattleya* sp. y *Phalaenopsis* sp. Orquídeas de amplio valor comercial en Perú

Selección y preparación de las plantas madres

Selección de las cápsulas

La obtención de la cápsula de ambas especies, se hizo cuando la flor polinizada luego de unos meses haya formado la cápsula, esto se colectó y colocó en un sobre de papel para su posterior preparación para la siembra, anotando el día que se colectó, la especie, el lugar y el colector.



Después de la polinización cuando la flor comienza a secarse y comienza a formarse como embarazo podríamos decir que la polinización fue exitosa, esto sucede después de los 15 días de polinización.

Finalmente después de los 6 meses es donde obtenemos la capsula con las semillas listas para la siembra *in vitro*.



Lavado y preparado del material vegetal

Es el primer paso para la introducción del material vegetal a condiciones *in vitro* que consiste en separar la cápsula verde de la planta madre, para luego lavar con un escobilla pequeña de dientes suaves, con el cual se limpio la superficie de la cápsula esto se hizo en presencia de agua jabonosa después se enjuaga con agua.

Después de finalizar el lavado de las cápsulas, se procedió a observar detenidamente la cápsula con la finalidad de identificar zonas necróticas, los cuales se removió con la ayuda de un bisturí (N° 1 O - 11), tratando de no dañar la parte interior de la cápsula donde se encuentra la semilla.



Extracción de las semillas de la cápsula

En el interior de la cámara de flujo, una vez pasado el tiempo de la desinfección de la cápsula esto se retiro con ayuda de las pinzas largas, para después pasar rápidamente por el fuego (flamear). Se Deja que el alcohol se inflame completamente luego se dejó que la cápsula y las pinzas se enfrien. Se procedió después a transferir la cápsula a una superficie desinfectada (placa petri esterilizada).



En el MEDIO BASAL permanece las semillas aprox. 30 días, cuando ya están en protocormos se transfieren a un MEDIO 10 por unos 90 días, para luego pasarlas a otro medio de cultivo que es (MEDIO 20) donde las plántulas tomar forma, tamaño y desarrollo óptimo.

El desarrollo en los tres medio y el proceso de preacimatación sucede en el área de incubación, para seguir su proceso de preacimatación luego su aclimatación en vivero.



Tabla 3. Efecto de la *Cattleya* y *Phalaenopsis* sobre la propagación *in vitro* por semilla, evaluados a los 90, 180 y 270 días.

Géneros de orquídeas	Tiempo o en días	Número de brotes	Longitud de hoja (cm)	Ancho de hoja (cm)	Número de raíces	Longitud de raíz (cm)	Altura de plántula (cm)	Supervivencia (%)
<i>Cattleya</i>	90	1 ± 0 b	0.25 ± 0.003 d	0.04 ± 0.0009 d	0 ± 0 d	0 ± 0 d	0.64 ± 0.005 e	99.28 ± 0.04 a
<i>Cattleya</i>	180	1.44 ± 0.06 b	1.03 ± 0.02 d	0.1 ± 0.002 d	2.2 ± 0.04 c	1.83 ± 0.05 c	2.17 ± 0.01 cd	93.75 ± 0.22 b
<i>Cattleya</i>	270	2.57 ± 0.04 a	3.48 ± 0.03 b	0.57 ± 0.008 b	4.57 ± 0.08 b	6.06 ± 0.06 a	4.44 ± 0.05 b	87.54 ± 0.27 c
<i>Phalaenopsis</i>	90	1 ± 0 b	1.03 ± 0.01 d	0.36 ± 0.004 c	1.29 ± 0.02 cd	0.39 ± 0.006 d	1.5 ± 0.01 de	99.28 ± 0.04 a
<i>Phalaenopsis</i>	180	1.13 ± 0.02 b	2.31 ± 0.06 c	0.65 ± 0.01 b	4.14 ± 0.02 b	1.8 ± 0.02 c	2.81 ± 0.05 c	87.54 ± 0.23 c
<i>Phalaenopsis</i>	270	1.5 ± 0.03 b	4.78 ± 0.08 a	1.54 ± 0.01 a	7.17 ± 0.11 a	4.68 ± 0.06 b	5.49 ± 0.07 a	75.43 ± 0.25 d
C.V (%)		9.73	5.32	12.27	5.75	7.32	11	4.76

Phalaenopsis y *Cattleya* posibilita la producción masiva de plántulas y su validación para una producción exitosa para los viveros que propician el negocio de estas valiosas orquídeas.

Con base a lo mencionado, el estudio ha demostrado la importancia que tienen el cultivo *in vitro* en la propagación de estas dos orquídeas a partir de semilla en el laboratorio de Tejidos Vegetales de la Universidad Nacional de San Martín.

Certificado de la ponencia



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO



CERTIFICADO

Otorgado a:

Ing. M.Sc GEOMAR VALLEJOS TORRES

Por su participación en calidad de **CONFERENCISTA** del ciclo de conferencias de **AVANCES EN CIENCIA TECNOLOGÍA Y DE INNOVACIÓN "ACTI 2020-4"**

"Propagación masiva de orquídeas (*Cattleya spp* y *Phalaenopsis sp*) mediante un sistema de biorreactores de inmersión temporal en San Martín, Perú"

Realizado el 10 de julio del 2020 de forma virtual a través de la plataforma de Cisco Webex Meetings, con una duración de 02 horas.

Tarapoto, 24 de julio de 2020

Dra. Alicia Bartra Reátegui
Vicerrectora de Investigación UNSM-T

Reg. N° 0005-2020

Activar W
Ve a Config

V. CONCLUSIONES

Se concluye que tanto *Phalaenopsis* y *Cattleya* posibilita la producción masiva de plántulas in vitro y su validación para una producción exitosa para los viveros que propician el negocio de estas valiosas orquídeas.

La difusión realizada fue de alcance nacional e internacional con la participación de jóvenes estudiantes, docentes de la Universidad Nacional de San Martín y público en general, quienes recibieron la metodología y resultados obtenidas con el proyecto

VI. AGRADECIMIENTOS

A la Universidad nacional de San Martín y al Instituto de Investigación y Desarrollo, por financiar la compra de los equipos que permitieron desarrollar la investigación en el marco de las actividades del proyecto “Propagación masiva de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) mediante un sistema de biorreactores de inmersión temporal en San Martín, Perú”

VII. REFERENCIAS

Georgieva, L.; Tsvetkov, I.; Georgieva, M.; Kondakova, V. (2016). Nuevo protocolo para la propagación in vitro de plantas de bayas por este biorreactor. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, Sofía, v.22, n.5, p.745–751.

Ministerio del Ambiente. (2015). Guía de identificación de orquídeas con mayor demanda comercial. 99 p. ISBN 978-612-4174-19-3. Lima, Perú.