



**INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR  
DE LOS REYES**

## **MAESTRÍA EN AGROBIOTECNOLOGÍA**

**Establecimiento de un protocolo de  
propagación in vitro a partir de explantes  
vegetativos de híbridos de orquídeas.**

# **TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRA EN AGROBIOTECNOLOGÍA  
PRESENTA:**

**I.I.A. LUZ MARIA GUADALUPE MARTINEZ  
JUANILLO**

**DIRECTOR(A) DE TESIS:**

**M.C. Gamaliel Valdivia Rojas**

**CODIRECTOR DE TESIS:**

**M.C. Daniel Eduardo Ávila Ávila**

**Los Reyes de Salgado, Michoacán, diciembre, 2025**



La presente tesis, titulada: **Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes vegetativos de híbridos de orquídeas**, realizada por la alumna: Luz María Guadalupe Martínez Juanillo, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN AGROBIOTECNOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR:

DIRECTOR DE TESIS

---

M.C. GAMALIEL VALDIVIA ROJAS

CODIRECTOR

---

M.C. DANIEL EDUARDO ÁVILA ÁVILA

ASESOR 1:

---

M.C. SANTOS ZEPEDA GUZMÁN

ASESOR 2:

---

M.C. YOLANDA RUIZ SUÁREZ

Los Reyes de Salgado, Michoacán, a diciembre del 2025



LOS REYES, MICH., A 18 DE noviembre DEL 2025 .

**ASUNTO: SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN  
PARA IMPRESIÓN DE LA TESIS**

**DR. CRUZ ERNESTO AGUILAR RODRÍGUEZ**  
COORDINADOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**P R E S E N T E**

Por medio del presente le informo que ha sido revisado y liberado el siguiente proyecto para su autorización de impresión:

|                            |                                                                                                                           |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Nombre del Sustentante: | Luz María Guadalupe Martínez Juanillo                                                                                     |
| b) Maestría en:            | AGROBIOTECNOLOGÍA                                                                                                         |
| c) Matricula:              | M22060011                                                                                                                 |
| d) Nombre del Proyecto:    | Establecimiento de un protocolo de propagación <i>in vitro</i> a partir de explantes vegetativos de híbridos de orquideas |
| e) Producto                | Tesis                                                                                                                     |

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

**A T E N T A M E N T E:**

**Miembros del Comité Tutorial:**

M.C.B. Gamaliel  
Valdivia Rojas  
Director de Tesis

M.C.A. Daniel Eduardo  
Avila Avila  
Codirector de Tesis

M.C.B. Santos Zepeda  
Guzman  
Revisor 1

M.C.B.P. Yolanda Ruiz  
Suarez  
Revisor 2



## LICENCIA DE USO DE OBRA

**LICENCIA DE USO OTORGADA POR** Ing. Luz María Guadalupe Martínez Juanillo, de nacionalidad Mexicana mayor de edad, con domicilio ubicado en Calle olvido s/n, Barrio de San Diego, Pamatácuaro, Mich., C.P. 60430, en mi calidad de titular de los derechos patrimoniales y morales y autor de la tesis denominada “**Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes vegetativos de híbridos de orquídeas**” en adelante “**LA OBRA**” quien para todos los fines del presente documento se denominará “**EL AUTOR Y/O EL TITULAR**”, a favor del Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes y del Tecnológico Nacional de México, la cual se registrará por las cláusulas siguientes:

**PRIMERA –OBJETO:** “**EL AUTOR Y/O TITULAR**”, mediante el presente documento otorga al Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes del Tecnológico Nacional de México, licencia de uso gratuita e indefinida respecto de “**LA OBRA**”, para almacenar, preservar, publicar, reproducir y/o divulgar la misma, con fines académicos, por cualquier medio en forma física y a través del repositorio institucional y del repositorio nacional, éste último consultable en la página: (<https://www.repositorionacionalcti.mx/>).

**SEGUNDA - TERRITORIO:** La presente licencia se otorga, de manera no exclusiva, sin limitación geográfica o territorial alguna, de manera gratuita e indefinida.

**TERCERA -ALCANCE:** La presente licencia contempla la autorización para formato uso de “**LA OBRA**” en cualquier formato o soporte material y se extiende a la utilización, de manera enunciativa más no limitativa a los siguientes medios: óptico, magnético, electrónico, virtual (red), mensaje de datos o similar conocido por conocerse.

**CUARTA – EXCLUSIVIDAD:** La presente licencia de uso aquí establecida no implica exclusividad en favor del Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes; por lo tanto, “**EL AUTOR Y/O TITULAR**” conserva los derechos patrimoniales y morales de “**LA OBRA**”, objeto del presente documento.

**QUINTA – CRÉDITOS:** El Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes y/o el Tecnológico Nacional de México reconoce que el “**AUTOR Y/O TITULAR**” es el único, primigenio y perpetuo titular de los derechos morales sobre “**LA OBRA**”; por lo tanto, siempre deberá otorgarle los créditos correspondientes por la autoría de la misma.

**SEXTA – AUTORÍA:** “**EL AUTOR Y/O TITULAR**” manifiesta ser el único titular de los derechos de autor que derivan de “**LA OBRA**” y declara que el material objeto del presente fue realizado por él, sin violentar o usurpar



derechos de propiedad intelectual de terceros; por lo tanto, en caso de controversia sobre los mismos, se obliga a ser el único responsable.

Dado en la Ciudad de Los Reyes de Salgado, Michoacán, a los 01 días del mes de diciembre de 2025.

"EL AUTOR Y/O TITULAR"

LMGM3

I.ING. LUZ MARÍA GUADALUPE MARTÍNEZ  
CAMARENA  
JUANILLO

"EL INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE LOS REYES"

Dr. Seferino Magallan  
DR. SEFERINO MAGALLAN

DIRECTOR GENERAL DEL ITSLR

### **Síntesis curricular**

Luz María Guadalupe Martínez Juanillo es originaria de Pamatácuaro Michoacán, nació el 22 de agosto de 1992. En julio del año 2011 ingresó al Tecnológico de Estudios Superiores de Los Reyes, en Los Reyes, Michoacán y egresó con el Título de Ingeniero en innovación agrícola sustentable, en el 2016. De octubre de 2016 a octubre de 2018 laboró en la Junta Local de Sanidad Vegetal de Los Reyes, ubicada en Atapan Michoacán, fungió con técnico auxiliar de campo de Inocuidad. Realizó la maestría en Agrobiotecnología en el Instituto Tecnológico Superior de Los Reyes Michoacán, desde 2022 hasta el 2024. Durante el periodo que cursó sus estudios de posgrado fue presentado un cartel en el CIENTEC del 2023 "PRIMER EVENTO DE DIFUSIÓN DE LA CIENCIA E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA". En el 2024 en la presentación de cartel y ponente en el PRIMER CONGRESO INTERNACIONAL EN, INNOVACIÓN TECNOLÓGICA "CONECTANDO MENTES, INNOVANDO EL FUTURO" Y 3ER CONGRESO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRÍCOLA y en 2024 como ponente en: VI CONGRESO INTERNACIONAL. VIII ENCUENTRO DE LA RED DE VINCULACIÓN SOMUCAAB 2024.

## **Agradecimientos**

Agradezco la MAESTRÍA EN AGROBIOTECNOLOGÍA por darme la oportunidad de ser parte de sus alumnos, a los maestros que con cada clase compartían su conocimiento y daban un impulso a nuestros aprendizajes.

Agradezco a Dios y a mis padres Jaime Martínez y Ofelia Juanillo, A mis hermanos Artemio, Cecilia, María Elisa, Ofelia y concepción por darme la oportunidad y el apoyo para seguir un nuevo camino, una meta que gracias a su apoyo he alcanzado y logrado.

Agradezco al maestro Gamaliel Valdivia Rojas que además de ser el asesor de tesis fue uno de los maestros que me motivo para ingresar a la Maestría en Agrobiotecnología que estuvo apoyándome, regañando, pero sobre todo compartiendo su conocimiento. También quiero agradecer una gran amiga la maestra Yadira Avalos con la que compartí varios momentos y aventuras.

Me gustaría agradecer a una persona muy especial para mí que, aunque no se encuentre en este mundo sé que él estaría muy feliz de ver que una de su nieta ha llegado tan lejos, y alcanzado uno de sus objetivos.

## **Dedicatoria**

Me gustaría dedicar la tesis a mis papas Jaime Martínez Francisco y Ofelia Juanillo Gabriel, a mis hermanos Artemio, Cecilia, María Elisa, Ofelia y Concepción, a mis sobrinos Manuel Andrés Martínez y Aurora Ariadna Martínez Morales, porque ellos siempre serán uno de mis grandes motivos para seguir adelante, buscando nuevas metas y caminos.

# ÍNDICE

## Contenido

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Índice de Figuras.....                                                                                | 11 |
| Índice de Cuadros.....                                                                                | 13 |
| RESUMEN .....                                                                                         | 14 |
| INTRODUCCIÓN .....                                                                                    | 16 |
| Planteamiento del problema.....                                                                       | 18 |
| Justificación .....                                                                                   | 19 |
| Hipótesis .....                                                                                       | 20 |
| Objetivos .....                                                                                       | 20 |
| I.....MARCO TEÓRICO                                                                                   | 21 |
| 1.1 Planta de orquídea.....                                                                           | 21 |
| <b>1.1.2 Descripción botánica de la orquídea</b> .....                                                | 22 |
| <b>1.1.3 Clasificación taxonómica de la orquídea</b> .....                                            | 24 |
| <b>1.1.4 Propagación de la orquídea</b> .....                                                         | 25 |
| 1.2 Fundamentos del cultivo de tejido <i>in vitro</i> .....                                           | 26 |
| 1.3 Importancia del cultivo de tejido <i>in vitro</i> y sus limitaciones.....                         | 26 |
| 1.4 Tipos de regeneración de plantas en cultivo de tejido <i>in vitro</i> .....                       | 27 |
| <b>1.4.1 Organogénesis</b> .....                                                                      | 27 |
| <b>1.4.1 Embriogénesis somática</b> .....                                                             | 28 |
| 1.5 Etapas del cultivo <i>in vitro</i> .....                                                          | 29 |
| <b>1.5.1 Selección de la planta madre y recolección de los explantes</b> .....                        | 29 |
| <b>1.5.2 Fase de establecimiento en cultivo de tejido <i>in vitro</i></b> .....                       | 29 |
| <b>1.4.1 Fase de multiplicación en cultivo de tejido <i>in vitro</i></b> .....                        | 30 |
| <b>1.4.1 Fase de enraizamiento en cultivo de tejido <i>in vitro</i></b> .....                         | 30 |
| <b>1.4.2 Fase de Aclimatación del cultivo de tejido <i>in vitro</i> a condiciones <i>ex vitro</i></b> | 31 |
| 1.5 Medio de cultivo .....                                                                            | 32 |
| <b>1.5.1 Composición del medio de cultivo</b> .....                                                   | 32 |
| <b>1.5.2 Tipos de medios de cultivo</b> .....                                                         | 34 |
| 1.6 Reguladores de crecimiento .....                                                                  | 35 |

|                                                                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>1.6.1 Tipos de reguladores de crecimiento</b> .....                                                                        | 35  |
| <b>1.6.2 Importancia de los reguladores de crecimiento</b> .....                                                              | 37  |
| 1.7 Sistema de inmersión temporal.....                                                                                        | 37  |
| 1.9 Estudios previos.....                                                                                                     | 38  |
| II. ....MATERIALES Y MÉTODOS                                                                                                  |     |
| .....                                                                                                                         | 40  |
| 2.1 Material Biológico.....                                                                                                   | 40  |
| <b>2.1.1 Selección del material vegetativo</b> .....                                                                          | 40  |
| <b>2.1.2 Preparación de medio de cultivo</b> .....                                                                            | 40  |
| 2.2 Análisis de datos.....                                                                                                    | 45  |
| 2.3 Germinación de semillas de orquídea <i>in vitro</i> .....                                                                 | 45  |
| III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....                                                                                              | 47  |
| 3.1 Evaluación de BAP (6-benzilaminopurina) y AIB (Ácido indolbutírico) en explantes de <i>Cymbidium</i> . ....               | 47  |
| 3.2 Evaluación de BAP (6-benzilaminopurina) y AIB (Ácido indolbutírico) en explantes de <i>Dendrobium</i> . ....              | 49  |
| 3.3 Evaluación del número de inmersiones al día en <i>Cymbidium</i> . ....                                                    | 52  |
| 3.4 Evaluación del sistema de inmersión temporal a 2 mg/l de BAP de <i>Cymbidium</i> y <i>Dendrobium</i> . ....               | 54  |
| 3.5 Evaluación del sistema de inmersión temporal a 2 mg/L de BAP- 3mg/L de AIB de <i>Cymbidium</i> y <i>Dendrobium</i> . .... | 56  |
| IV. ....CONCLUSIONES                                                                                                          |     |
| .....                                                                                                                         | 59  |
| V. ....RECOMENDACIONES                                                                                                        |     |
| .....                                                                                                                         | 60  |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                              | 61  |
| ANEXOS.....                                                                                                                   | 67  |
| ANEXO 7 COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MURASHIGE Y SKOOG.....                                                               | 118 |

## Índice de Figuras

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Página |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| <b>Figura 1.</b> Estructura básica de la flor (León, B., & Romero, S. 2016).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 23     |
| <b>Figura 2.</b> Orquídea según su crecimiento (León, B., & Romero, S. 2016).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 25     |
| <b>Figura 3.</b> Tipos de regeneración de plantas en cultivo de tejido <i>in vitro</i> ,<br>modificado de (Contreras, 2016).                                                                                                                                                                                                                                                                    | 28     |
| <b>Figura 4.</b> Esquema del proceso de micropropagación (Suarez E. 2020).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 32     |
| <b>Figura 5.</b> Material vegetativo a utilizar. A) plantas <i>in vitro</i> de <i>Dendrobium</i> y<br><i>Cymbidium</i> , B) vara floral <i>Phalenopsis</i> enana.                                                                                                                                                                                                                               | 40     |
| <b>Figura 6.</b> Medio de cultivo basal para orquídeas.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 41     |
| <b>Figura 7.</b> Armado del sistema de inmersión temporal. A) Armado de las<br>tapas. B) Sistemas de inmersión armados completamente.                                                                                                                                                                                                                                                           | 42     |
| <b>Figura 8.</b> Métodos de siembra de explantes vegetativos.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 45     |
| <b>Figura 9.</b> Explantes vegetativos de <i>Cymbidium</i> en BAP A) 0 mg/L, B) 1<br>mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L.                                                                                                                                                                                                                                                                               | 48     |
| <b>Figura 10.</b> Explantes vegetativos de <i>Cymbidium</i> en AIB A) 0 mg/L, B) 1<br>mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L. Fotos tomadas a 90 días aproximadamente<br>después de la siembra de los explantes.                                                                                                                                                                                           | 49     |
| <b>Figura 11.</b> Explantes vegetativos de <i>Dendrobium</i> en BAP A) 0 mg/L, B) 1<br>mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L.                                                                                                                                                                                                                                                                             | 51     |
| <b>Figura 12.</b> Explantes vegetativos de <i>Dendrobium</i> en AIB A) 0 mg/L, B) 1<br>mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L.                                                                                                                                                                                                                                                                             | 52     |
| <b>Figura 13:</b> A, B y C son de <i>Cymbidium</i> y D, E y F son de <i>Dendrobium</i> en<br>sistema de inmersión temporal. Donde A y D) muestra cómo se encontraban<br>los explantes el día de la siembra al sistema de inmersión, B y E) 60 días<br>aproximadamente después del tratamiento y C y F) Son las plantas en proceso<br>de aclimatación y fuera del sistema de inmersión temporal. | 55     |
| <b>Figura 14.</b> Explantes de <i>Cymbidium</i> a una concentración de 2 mg/L de BAP-<br>3mg/L de AIB. A y B) Se encuentran en medio semisólido y C y D) en sistema<br>de inmersión temporal. Donde A y C) son el primer día de la siembra al medio<br>de cultivo e B y D) nos muestran el crecimiento de los explantes 45 días<br>después de la siembra                                        | 57     |

- Figura 15.** Explantes de *Dendrobium* a una concentración de 2 mg/L de BAP- 58  
3mg/L de AIB. A y B) Se encuentran en medio semisólido y C y D) en sistema  
de inmersión temporal. A y C) Día de la siembra al medio de cultivo e B y D)  
45 días aproximadamente después del tratamiento.
- Figura 16.** A) Explantes de medio semisólido. B) Explantes del sistema de 58  
inmersión temporal.

## Índice de Cuadros

|                                                                                                                                                                                                    | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Cuadro 1. Clasificación taxonómica de las orquídeas.                                                                                                                                               | 25     |
| Cuadro 2. Algunas especies de orquídeas micropropagación por germinación asimbiótica de semilla (Mosqueda, M. A. R., <i>et al.</i> 2023).                                                          | 38     |
| Cuadro 3. Resultados de <i>Cymbidium</i> en 6-bencilaminopurina. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ).                                                 | 47     |
| Cuadro 4. Resultados de <i>Cymbidium</i> en Ácido indol butírico. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ).                                                | 49     |
| Cuadro 5. Resultados de <i>Dendrobium</i> en 6-bencilaminopurina. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ).                                                | 50     |
| Cuadro 6. Resultados de <i>Dendrobium</i> en Ácido indol butírico. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ).                                               | 52     |
| Cuadro 7. Resultados del número de inmersión por día en <i>Cymbidium</i> . Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ).                                       | 53     |
| Cuadro 8. Resultados del sistema de inmersión temporal a 2 mg/L de BAP de <i>Cymbidium</i> y <i>Dendrobium</i> . Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ). | 55     |
| Cuadro 9. Resultados del sistema de inmersión temporal a 2 mg/L de BAP- 3 mg/L de AIB de <i>Cymbidium</i> . Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ).      | 58     |
| Cuadro 10. Resultados del sistema de inmersión temporal a 2 mg/L de BAP- 3 mg/L de AIB de <i>Dendrobium</i> . Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey $p<0.05$ ).    | 53     |

## RESUMEN

Las orquídeas son caracterizadas por la belleza de las flores, siendo una de las plantas más apreciadas y hermosas, y uno de los principales motivos de extracción y destrucción de su hábitat natural colocado a las orquídeas en peligro de extinción. Llevando a diferentes investigadores a genera nuevas técnicas de cultivo *in vitro* como es el de tejidos vegetales. Implica la producción de plantas utilizando diferentes partes de los explantes, en condiciones asépticas en un recipiente donde se pueden controlar las condiciones ambientales y los nutrientes, reduciendo el tiempo de propagación. Para realizar la tesis se utilizan explantes de *Dendrobium* y *Cymbidium* provenientes de cultivo *in vitro*. La siembra se llevó a cabo en un medio semisólido y en sistema de inmersión temporal, se le adiciono auxinas y citoquininas a tres dosis distintas. Cada variedad reacciona de diferente manera por ejemplo en *Cymbidium* al aplicar 2 mg/L de BAP en el medio MS aumenta el crecimiento de nuevos brotes mientras que en las demás no muestra ninguna diferencia, sin embargo, al aplicar AIB en el medio los explantes no tienen ninguna diferencia significativa. *Dendrobium* no muestra diferencia significativa en semisólido con BAP en cambio al agrega un 1 mg/L de AIB al medio hay una diferencia en el número de hojas y la longitud de los explantes. AL comparar el medio semisólido con los sistemas de inmersión temporal al cual se le adiciono 2 mg/L de BAP- 3 mg/L de AIB ambas variedades reacción diferente en *Cymbidium* obtienen un mejor se resultado en el medio líquido, a diferencia de *Dendrobium* que reacciona mejor en el medio semisólido. Sin embargo, los explantes que se encontraban en el medio semisólido tienden a crecer sus raíces mientras que en el medio liquido crece a parte aérea y foliar.

### PALABRAS CLAVE:

In vitro, planta, orquídeas, peligro de extinción

### ABSTRACT

Orchids are characterized by the beauty of their flowers, making them one of the most prized and beautiful plants. However, this is also one of the main reasons for their extraction and the destruction of their natural habitat, placing orchids at risk of extinction. This has led researchers to develop new in vitro culture techniques, such as plant tissue culture. This involves producing plants using different parts of explants

under aseptic conditions in a container where environmental conditions and nutrients can be controlled, thus reducing propagation time. For this thesis, *Dendrobium* and *Cymbidium* explants obtained from *in vitro* culture were used. Sowing was carried out in a semi-solid medium using a temporary immersion system. Auxins and cytokinins were added at three different doses. Each variety reacted differently. For example, in *Cymbidium*, applying 2 mg/L of BAP to the MS medium increased the growth of new shoots, while the other varieties showed no difference. However, applying IBA to the medium did not result in any significant difference in the explants. *Dendrobium* showed no significant difference in semi-solid medium with BAP; however, adding 1 mg/L of IBA to the medium resulted in a difference in the number of leaves and the length of the explants. When comparing the semi-solid medium with temporary immersion systems to which 2 mg/L of BAP and 3 mg/L of IBA were added, both varieties showed different reactions. *Cymbidium* obtained better results in the liquid medium, unlike *Dendrobium*, which reacted better in the semi-solid medium. However, the explants in the semi-solid medium tended to develop roots, while those in the liquid medium showed growth in the aerial and foliar parts.

**KEY WORDS:**

*In vitro*, plants. Orchids, danger of extinction

## INTRODUCCIÓN

Las orquídeas se caracterizan por la belleza de las flores, son misteriosas por su relación con la biota, el cómo se adaptan a los ambientes donde crecen y por sus diferentes formas de crecimiento, siendo así unas de plantas más apreciadas y hermosas, siendo uno de los factores principales para la extracción y comercio ilegal de las orquídeas de su hábitat natural. Otro de los factores es la destrucción de su hábitat natural debido a la tala de árboles donde se reproducen y la contaminación, poniendo así a las orquídeas en peligro de extinción (Pérez-Martínez, *et al.* 2016).

En México se pueden encontrar una gran diversidad y abundancia de plantas epifitas en los bosques mesófilos, siendo las orquídeas uno de los componentes principales de este hábitat junto con bromelias y algunos helechos, no solo por su variedad de especies si no que son lugares donde aún existe una flora y fauna no dañada o explorada por el ser humano (Krömer, *et al.* en 2021).

Las flores de orquídea son zigomorfas es decir que tienen una simetría bilateral, se originan de una inflorescencia conocidas como uní o multiflora, otra de ellas en espiga, racimo, panícula o umbrella. La inflorescencia puede variar dependiendo su orientación, ya sea axilar, basal, lateral, o terminal, puede ser erecta o péndula (Ordóñez, 2016).

Las orquídeas son plantas con flores, también conocidas como angiospermas, y pertenecen a la categoría de las monocotiledóneas. Son una de las familias de plantas más grandes, que se caracteriza por su singularidad floracion (Santacruz, 2010).

La propagación de las orquídeas puede ser por medios de la polinización natural o por medio de la polinización artificial, es decir, el cultivo *in vitro*, cuidando la cápsula hasta llegar a su maduración (Santacruz, 2010). El término cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas en un entorno artificial dentro de un recipiente de vidrio.

Vasco C., (2020) dice que el vidrio proviene del latín, describiendo al cultivo aséptico de tejidos, células y diferentes tipos de órganos o partes de la planta. Que en la actualidad es conocido como *in vitro* por realizarse en frascos de vidrio o recipientes de plástico transparentes, cultivando una parte de la planta en condiciones asépticas.

La organogénesis depende de varios factores, como la introducción de fitohormonas, como son las auxinas y citoquinina. Además de la capacidad que tenga la célula para regenerarse y del cambio que las hormonas lleguen a causar durante el cultivo.

La embriogénesis somática (ES) es una técnica eficiente en la biotecnología, utilizada en la propagación de plantas se debe a que tiene una naturaleza bipolar del embrión, además no presenta conexión vascular con los tejidos parentales y adquiere la posibilidad de que el proceso productivo sea automático aumentando la tasa de multiplicación en periodos más cortos (Castro, E. J., 2021). Es donde se forman embriones que se generan de las células somáticas (Ruiz A., 2022).

Después de elegir la planta madre, deben seleccionarse los explantes que se usarán. mediante un procedimiento de desinfección, para luego ser ubicados en el medio de cultivo con las soluciones nutritivas que sean más apropiadas (Goyes Tixi, J. X., & Rojas Buenaño, Y. N., 2021). Es la etapa donde se busca el mayor crecimiento y formaciones nuevas raíces, su finalidad es que antes de que el explante termine su formación a una nueva plántula tenga el soporte suficiente para que sobreviva al pasar al siguiente proceso (Castillo, A., 2004; Ruiz A., 2022).

En algunas ocasiones las citoquininas que se encuentran en los tejidos vegetales pueden llegar a causar dificultades en la formación de raíces, aun a pesar de las auxinas presentes en el medio, varía dependiendo la cantidad y solo se puede utilizar de un tipo o al combinarlo con algún otro tipo de hormona usualmente y que es más común es el ácido-indol-3-butírico, el ácido 1-naftalenacético y el ácido-indol-3-acético (Ruiz A., 2022).

Una de las características de esta fase de aclimatación es que se pasa la planta que se hallan en un ambiente controlado como es el cultivo *in vitro*, a un ambiente distinto como son los invernaderos, este paso es muy importante debido a que ayudaran a la obtención de nuevas plántulas. El medio de cultivo juega un rol esencial en este paso, por su constitución con la que está hecho, como son: una fuente de carbono, nutrientes minerales, compuestos vitamínicos y un gelificante (en la situación de medios semisólidos y compuestos que regulan el crecimiento. En este caso, el balance que la planta requiere en sus periodos de cultivo *in vitro* (Ruiz A., 2022). Dado que el propósito del proyecto es crear un protocolo para la propagación *in vitro* de Muestras vegetativas de híbridos de orquídeas.

## **Planteamiento del problema**

Las orquídeas son un conjunto de plantas que tienen una gran relevancia, no solamente desde la perspectiva ecológica, si no desde el punto de vista comercial y sociocultural. Por ello desde que el hombre vive en sociedad, las ha empleado ya sea por sus flores que son muy vistosas y algunas con exquisitos aromas, como por sus flores tan especiales en ceremonias religiosas. México es un país de enorme riqueza en especies de orquídeas. Dispone de aproximadamente 1,400 especies de orquídeas que prosperan en casi todas las clases de vegetación, sin embargo, la mayoría están por debajo de los 2,000 metros sobre el nivel del mar, en las montañas del centro y sur de la nación, en varias clases de bosques tropicales y templanza. Las orquídeas se propagan de manera natural tanto por esquejes como por semillas, sin embargo, aunque una cápsula llega a contener miles de semillas muy pocas llegan a germinar debido a que son muy pequeñas y requieren la asociación con hongos para su germinación, además de requerir condiciones de sitios poco perturbados para lograr la germinación. Por lo anterior, en el caso de las orquídeas comerciales se utiliza el cultivo *in vitro* para poder alcanzar una germinación más eficiente, sin embargo existen otras técnicas de las cuales se pueden emplear diferentes partes de la planta. En la actualidad las técnicas de propagación *in vitro* de plantas requieren establecer protocolos eficientes de propagación por medio de la reproducción asexual, con la finalidad optimizar el proceso de reproducción de híbridos comerciales.

### **Justificación**

Al establecer un protocolo eficiente de propagación *in vitro* de explantes vegetativos de híbridos orquídeas que permite avanzar en la obtención de mayor número de plantas para su comercialización además de reducir los costos y las pérdidas en el proceso de propagación. Por otro lado, también se puede reducir el tiempo de propagación, generación de brotes, crecimiento y desarrollo de plántulas. Con todo lo anterior se puede reducir el uso de mano de obra que genera uno de los costos más importantes en la propagación de plantas además de la reducción de costos por este concepto.

## **Hipótesis**

Es posible establecer un protocolo eficiente de propagación *in vitro* de explantes vegetativos de orquídea utilizando reguladores de crecimiento a concentraciones adecuadas.

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Establecer un protocolo de propagación *in vitro* de explantes vegetativos de híbridos de orquídeas a diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento.

### **Objetivos Específicos**

- 1.- Evaluar el efecto de reguladores de crecimiento en la propagación de protocormos de híbridos de orquídeas para el cultivo *in vitro*.
- 2.- Establecer el número de inmersiones para la propagación eficiente de orquídeas en el sistema de inmersión temporal.

## I. MARCO TEÓRICO

### 1.1 Planta de orquídea.

Las orquídeas se caracterizan por la belleza de las flores, son misteriosas por su relación con la biota, el cómo se adapta a los ambientes donde crecen y por sus diferentes formas de crecimiento siendo así de las plantas más apreciada y hermosas, razón por la cual se da la extracción y comercio ilegal de las orquídeas de su hábitat natural. Otro de los factores es la destrucción de su hábitat natural debido a la tala de árboles donde estas se reproducen y la contaminación, poniendo así a las orquídeas en peligro de extinción (Pérez-Martínez, *et al.* 2016).

Se estima que las primeras orquídeas se encontraron en la era del Eoceno hace más de 54 millones de años. Aunque actualmente los primeros registros fósiles que este caso son los polonios de una especie llamada *Meliorchis caribea*, que se encontraba en una abeja conservada por ámbar desde la era del Cretácico superior (García C., 2021).

Es posible que las orquídeas constituyan una de las familias vegetales más grandes, con más de 28,500 especies que los investigadores han logrado identificar hasta el momento a nivel global (Carranza C., *et al.*, 2023). Sus flores presentan una amplia diversidad en cuanto a tamaño, color y textura. son el atractivo principal, que se distingue por su forma tan simple: tres pétalos y tres sépalos, aunque uno de ellos es distinto a los otros dos y se le llama labelo (Salgado, J. y Peñaranda, L., 2018).

En México se conocen aproximadamente 1,263 especies, la cuales 585 son endémicas. los principales estados con esta biodiversidad son Michoacán, Jalisco, Guerrero, Chiapas, Oaxaca, Tabasco y Veracruz. Posicionando así a México en el 4° lugar con mayor biodiversidad de orquídeas (Téllez y Tejeda, 2017).

Su principal hábitat son los bosques húmedos tropicales donde se puede encontrar mayor diversidad de flores de orquídeas en el mundo. Aunque se pueden encontrar un aproximado de la variedad y distribución de flores en la actualidad aún no se tiene los datos exactos de su distribución (Krömer, *et al.* en 2021).

Se distribuyen en casi todos los continentes, a excepción de la Antártida y los desiertos; están ubicadas a una altitud de 4000 metros sobre el nivel del mar. Las especies epifitas

se ubican en trópicos húmedos, mientras que las terrestres se encuentran en áreas templadas (García C., 2021).

Debido a que la biotecnología ha mejorado y a que las orquídeas se utilizan hoy en día como plantas medicinales mediante el cultivo *in vitro*, se extraen de la orquídea *Dendrobium candidum* metabolitos secundarios como la *dendrobina* para tratar la diabetes; *coeloginantina* y *coeloginantridina* de *Coelogyne cristata* con funciones de *fitoalexinas* y reguladores endógenos del crecimiento vegetal; 4-hidroxibenzaldehído de *Anoectochilus formosanus* con propiedades antiinflamatorias; y *dendinobina* de *Dendrobium nobile* con efecto antitumoral. de *Dendrobium chrysanthum*, el *dendrocrisaneno* tiene función antipirética; de *Dendrobium densiflorum*, la *escoparona* tiene función antiagregante plaquetaria; de *Dendrobium fimbriatum*, la *fimbriatona* tiene efecto antitumoral; de *Anoectochilus roxburghii*, el *rutinósido* es antioxidante. De *Cymbidium goeringii*, la *cymbidina A* es diurética e *hipotensiva*. De *Bletilla striata*, el *blestrianol A* inhibe la polimerización de *tubulina*. Por último, a partir de *Vanda tessellata* se obtiene *heptacosano* y *octacosanol* con actividad antiinflamatoria (CIBA., 2024).

### ***1.1.1 Importancia de la orquídea como cultivo***

En México se pueden encontrar una gran diversidad y abundancia de plantas epífitas en los bosques mesófilos, siendo las orquídeas uno de los componentes principales de este hábitat junto con bromelias y algunos helechos, no solo por su variedad de especies sino porque son lugares donde aún existe una flora no dañada o explorada por el ser humano (Krömer, *et al.* en 2021).

Son importantes para los bosques nativos, siendo o considerados indicadores biológicos, el encontrar las orquídeas dentro de ellos es indicador de no haber sido explotado, con una gran biodiversidad, un buen ecosistema. Formando parte de las diversas culturas y tradiciones. Se consideran plantas ornamentales, medicinales y alimenticias. Siendo una de las familias más pobladas con especies, (Santacruz, 2010).

### ***1.1.2 Descripción botánica de la orquídea***

**Flor de la orquídea:** Está compuesta de seis partes: tres sépalos que son idénticos entre sí y están situados en la parte posterior, y tres pétalos que se hallan al frente, dos de los cuales son iguales y uno distinto. El pétalo diferente es el del medio de la flor, conocido

como labelo o pétalo modificado. Es la parte más atractiva y contiene los órganos reproductivos (Sedano et al., 2015).

Las flores de orquídea son zigomórfica es decir que tienen una simetría bilateral, se originan de una inflorescencia conocidas como uní o multiflora, otra de ellas en espiga, racimo, panícula o umbella. La inflorescencia puede variar dependiendo su orientación, ya sea axilar, basal, lateral, o terminal, puede ser erecta o péndula (Ordóñez, 2016).

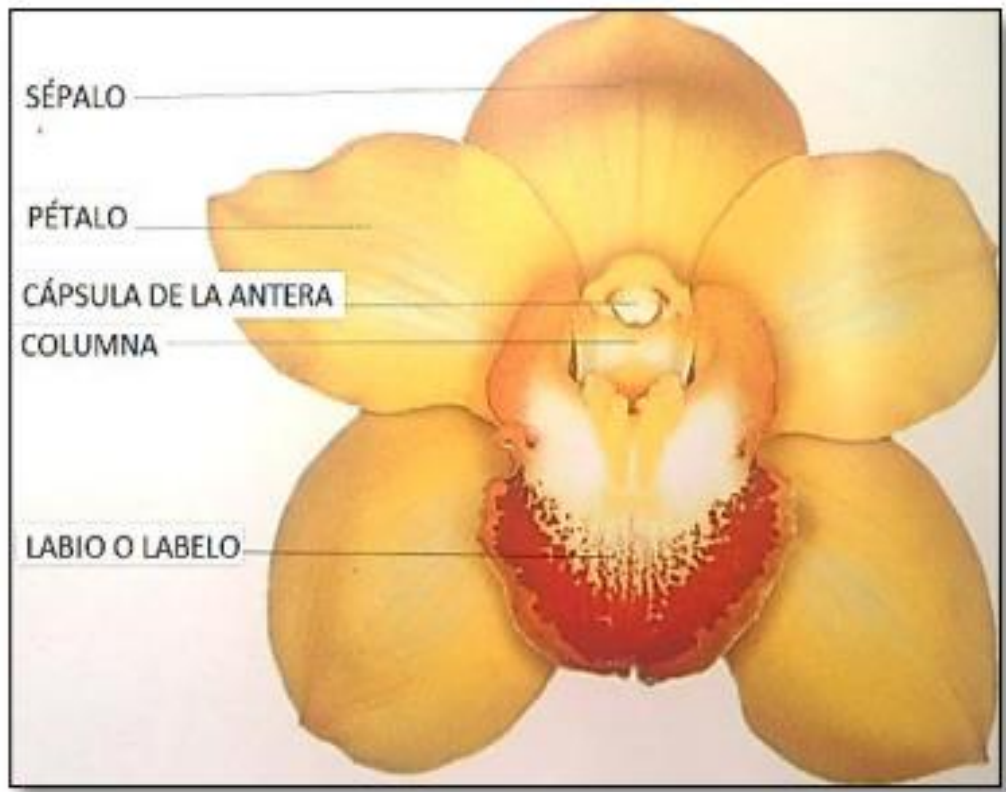


**Figura 1.** Estructura básica de la flor (León, B., & Romero, S. 2016).

**Fruto o cápsula:** botánicamente conocidos como cápsulas, separados en tres partes dentro de esta, tienen una amplia variedad de formas y tamaños: pueden ser grandes o pequeños, ovales y largos o casi redondeados, con verrugas o muy angulosos (Sedano et al. 2015).

**Semillas:** son monocotiledóneas, lo que significa que están compuestas por una sola parte. Cotiledón. Miles de semillas se hallan dentro de la cápsula. Su estructura general puede ser filiforme (en forma de hilo) o fusiforme (cilíndrica con punta), y en ocasiones parecen ser alas o salientes. Miden unas pocas micras (son muy pequeñas) y alcanzan su tamaño puede alcanzar los 5 milímetros, y su peso oscila entre 1 y 22 microgramos.

Se compone de una cubierta y un embrión en su interior. El endospermo, que no le falta, alimenta al embrión mientras brotan sus primeras hojas. El embrión está compuesto por entre ocho y 200 células, mientras que la testa o cáscara lo está por células muertas (Sedano, et al. 2015).

**La temperatura:** Las plantas de orquídea también estarán cómodas si una persona se siente confortable. Son las más apropiadas las temperaturas durante el día de 18° C (65° F) y 26° C (80° F), así como las nocturnas entre 12° C (55° F) y 23° C (75° F). Algunas más necesitan que existan diferencias significativas entre la temperatura de día y de noche para comenzar a florecer. Así, si la temperatura en el hogar no varía entre el día y la noche, puede haber dificultades para inducir la floración en ciertas variedades de orquídeas epífitas. No obstante, muchas son lo suficientemente robustas para sobrevivir fuera de los rangos óptimos de temperatura, aunque su crecimiento y floración podrían verse perjudicados (Díaz, 2013).

**Hojas:** Las hojas de las orquídeas son siempre simples, lo cual quiere decir que no tienen divisiones; los márgenes son enteros y carecen de espinas o aserraduras. Por lo general, son angostas y alargadas, y pueden perdurar durante varios años. Las hojas de las especies que habitan en sitios con mucho calor tienen una forma cilíndrica, lo cual previene que se sequen rápidamente (Sedano, *et al.* 2015).

**Raíces:** Las raíces son diferentes según la clase de orquídea. En las especies epífitas, que son aquellas que crecen sobre otras, normalmente un árbol nace de un rizoma o de pseudobulbos. En cambio, en las especies terrestres nacen a partir del tallo, cormos o pseudobulbos. Ambos sirven como soporte para la planta. Las raíces de las orquídeas son muy especializadas y tienen la capacidad de absorber las partículas acuosas del entorno. Está muy relacionado con las micorrizas, que son hongos que benefician el crecimiento de la planta y ayudan a su alimentación (Díaz, 2013).

### ***1.1.3 Clasificación taxonómica de la orquídea***

Las orquídeas son plantas con flor, por lo tanto, son angiospermas. Además, son monocotiledóneas. Son una de las familias de plantas más grandes y se caracterizan por las flores, el primer cuadro presenta la taxonomía de las orquídeas. (Santacruz, 2010).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de las orquídeas.

|           |                  |
|-----------|------------------|
| REINO:    | PLANTAE          |
| Subreino: | Tracheobionta    |
| División: | Angiospermas     |
| Clase:    | Monocotiledóneas |
| Subclase: | Liliadae         |
| Orden:    | Asparagales      |
| Familia:  | Orchidaceae      |

#### 1.1.4 Propagación de la orquídea

La propagación de las orquídeas puede ser por medios de la polinización natural o por medio de la polinización artificial, es decir, el cultivo *in-vitro*, cuidando la cápsula hasta llegar a su maduración (Santacruz, 2010).

Las orquídeas son plantas que hoy en día están amenazadas de extinción. Con el fin de incrementar la propagación, especialmente de las especies amenazadas, se está investigando la técnica *in vitro* para cultivar tejidos vegetales (Vasco C., 2020).

Vasco C. (2020) estableció que la propagación *in vitro* es un método que contribuye a una amplia multiplicación de un genotipo mediante técnicas de cultivo de tejidos vegetales. Al ser una de las herramientas esenciales en los programas de mejora y propagación de especies.

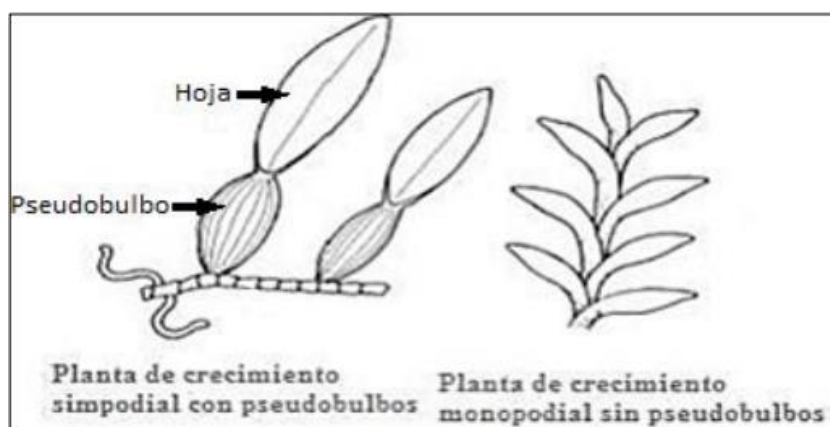


**Figura 2.** Orquídea según su crecimiento (León, B., & Romero, S., 2016).

## **1.2 Fundamentos del cultivo de tejido *in vitro***

El término cultivo *in vitro* de plantas se refiere a la práctica de cultivar plantas en un entorno artificial dentro de un frasco de vidrio. El control de los elementos que influyen en el crecimiento y la asepsia (la ausencia de gérmenes, entre otros) son las dos principales cualidades de este método de cultivo. El progreso logrado en las ciencias biológicas ha posibilitado, en años recientes, el análisis minucioso de las plantas a nivel celular y molecular. Hoy en día, además, se pueden reproducir todos los factores que puedan influir en el crecimiento y desarrollo de la planta bajo condiciones de laboratorio. El cultivo *in vitro* de plantas también sigue este principio general. A inicios del siglo pasado, el científico alemán Haberlandt propuso que las plantas podían reproducir su crecimiento usando células aisladas, lo cual generó la hipótesis de la totipotencia celular en las plantas. No obstante, el investigador no logró demostrar su hipótesis de manera práctica porque la mayor parte de los componentes complejos que conforman los medios de cultivo contemporáneos aún no se habían descubierto. La relevancia del equilibrio hormonal en las plantas no se establece sino hasta los años cincuenta, cuando se descubren las hormonas vegetales más utilizadas hoy en día (Sharry, *et al.* 2015).

## **1.3 Importancia del cultivo de tejido *in vitro* y sus limitaciones**

La técnica del cultivo de tejidos vegetales es una herramienta de la biotecnología que contribuye a producir plantas en grandes cantidades, de mejor calidad y más rápidamente, lo cual puede ser útil para solucionar las dificultades que sufren algunas especies en riesgo de extinción. Con el objetivo de utilizar la flora mexicana de manera sostenible, es relevante emplear la ciencia y la tecnología para restaurar las especies mexicanas, así como fomentar su investigación, reproducción y protección. (Hernández S., 2021).

Vasco C. (2020) afirma que el término "vidrio" tiene su origen en el latín, y se refiere al cultivo de células, tejidos y varios tipos de órganos o segmentos vegetales de manera aséptica. Que hoy en día se llama *in vitro* porque se lleva a cabo en recipientes de plástico transparentes o frascos de vidrio, cultivando una parte de la planta en condiciones asépticas y haciendo micropropagación, lo cual tiene algunas ventajas: aumento del número de plantas, mayor rapidez en el proceso de multiplicación y mejor

calidad genética. Es uno de los métodos que se han empleado en estudios de micropropagación de orquídeas.

Es una técnica de cultivo importante que se ha ido introduciendo lentamente en los planes de mejora y preservación genética de las especies, sobre todo aquellas que están incluidas en la lista de especies amenazadas o que tienen dificultad para reproducirse o propagarse. El cual tiene como meta la conservación de la biodiversidad, la recuperación de especies en riesgo de extinción y la preservación tanto *in situ* como *ex situ*. (Vasco C., 2020).

#### **1.4 Tipos de regeneración de plantas en cultivo de tejido *in vitro***

Los organismos vivos tienen la capacidad de restaurar un tejido, un órgano, después de perderlo o de algún tipo de daño que esté presente, las plantas no son una excepción, a diferencia de otros se puede iniciar a partir de células diferenciadas, y puede llegar a formar una nueva planta, y esto se lleva a cabo bajo técnicas de cultivo *in vitro* donde se puede tener un control ambiental específico (Ruiz A., 2022). No obstante, el proceso de propagación vegetal ya sea *in vivo* o *in vitro*, está condicionado por la habilidad del genoma de la especie para distinguirlo. Este procedimiento depende del estado fisiológico del órgano, tejido o célula empleado para el cultivo. Se conoce que esto puede ser alterado por compuestos con la misma función que las hormonas vegetales, también llamadas reguladores del crecimiento, los cuales son muy comunes en nuestros días en los medios de cultivo para la micropropagación de plantas *in vitro* (Segretín, M. E., 2006).

##### **1.4.1 Organogénesis**

La organogénesis *in vitro* depende varios aspectos, como la introducción de fitohormonas, como son las auxinas y citoquininas (Sugiyama, M., 1999). Este proceso se basa principalmente en la propagación asexual, es decir partir de tejidos somáticos no meristematicos. En conclusión, este proceso da lugar a un nuevo organismo funcional y maduro. Siendo la organogénesis un proceso exclusivo de las plantas. Parte de la formación del callo embriogénesis (Schwarz, O. J., & Beaty, R. M., 2018).

Durante la primera fase de la organogénesis la célula inactiva se prepara para iniciar su ciclo celular, es decir, el proceso de división celular. Esto depende de la cantidad con la

que cuente de genes que codifiquen la división celular como son las ciclinas y quinasas, que son las proteínas encargadas de la conservación de los genes (Sugiyama, M., 1999).

### 1.4.1 Embriogénesis somática

La embriogénesis somática (ES) es un método eficaz en la biotecnología, que se emplea para propagar plantas. Esto se debe a que el embrión es bipolar, no presenta conexión vascular con los tejidos parentales y permite que el proceso de producción sea automático, lo cual incrementa la tasa de multiplicación en lapsos más breves (Castro, E. J., 2021). Estas técnicas incentivan la facultad de las células vegetales de crear nuevos tejidos, órganos u organismos enteros a partir de una célula. El tipo de regeneración de plantas en tejido in vitro se presenta gráficamente en la figura 3. Para llevarlo a cabo, se han empleado varios métodos de cultivo, entre los que se encuentran los medios semisólido y líquido (Martínez-Martínez, S., *et al.* 2021).

Siendo considerada una de las técnicas más eficientes, en cuanto a la producción, se debe principalmente a la capacidad que tiene para formar nuevos brotes, o raíces. Sin embargo, aunque es más eficiente como todo tiene sus contradicciones en este caso es una técnica que tiene limitaciones y ha sido poco estudiada y tiene algunas variables que llegan a limitar el proceso, otra de las causas es que solo se han probado en pocas especies y aún se continúan realizando estudios (Ruiz A., 2022).

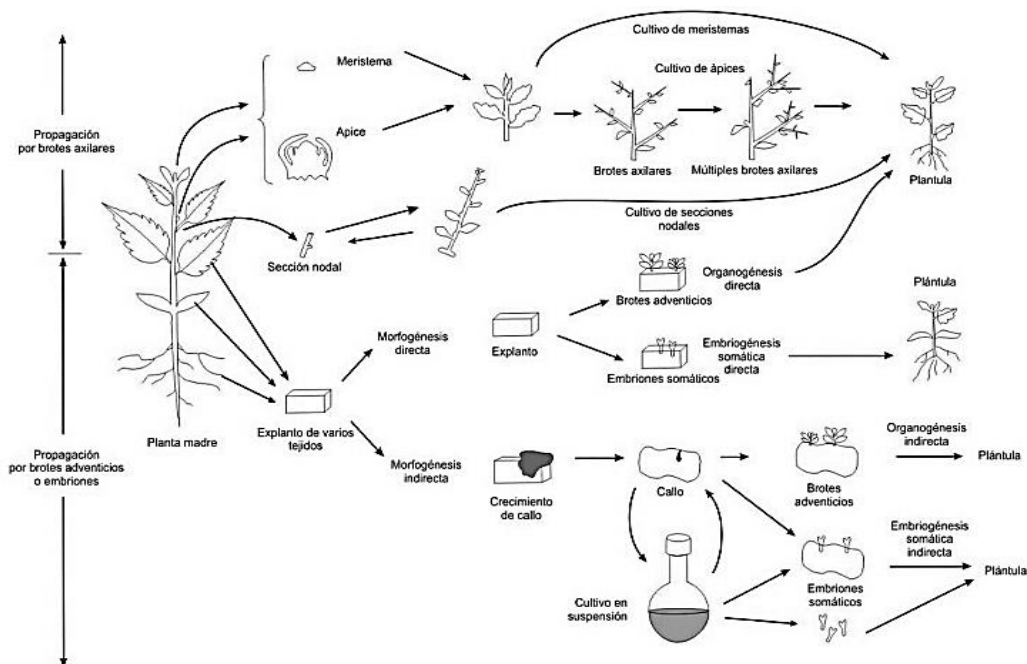


**Figura 3.** Tipos de regeneración de plantas en cultivo de tejido *in vitro*, modificado de (Contreras, 2016).

## **1.5 Etapas del cultivo *in vitro***

Para la propagación a gran escala de cualquier cultivo, es crucial considerar las fases siguientes. Son el fundamento de este método para, que garantiza la eficacia y eficiencia de dicho sistema de propagación *in vitro* (Ruiz A., 2022).

### ***1.5.1 Selección de la planta madre y recolección de los explantes***

La selección de la planta madre y los explantes comienza con la elección de una planta que tenga mejores atributos, como el color, el vigor del crecimiento, el olor y un estado más saludable. Después de seleccionar la planta madre, se lleva a un invernadero durante varios meses. Allí recibe un tratamiento con el riego y la nutrición apropiados para que su crecimiento sea vigoroso; además, se desinfecta con el propósito de que no tenga plagas ni enfermedades (Castro, E. J., 2021)

Después de tener la planta madre, se escogen las partes que se van a usar; pueden ser hojas, tallos, varetas florales o cualquier otra parte. Después de recolectar los explantes, se comienza el proceso de desinfección con algunas soluciones de cloro comercial, hipoclorito de sodio o calcio, peróxido de hidrógeno y alcohol en distintas concentraciones (esto varía según las propiedades de los explantes). Este procedimiento debe realizarse en un sitio previamente desinfectado y libre de contaminación para luego colocar los explantes en el medio de cultivo seleccionado (Goyes Tixi, J. X., & Rojas Buenaño, Y. N., 2021).

### ***1.5.2 Fase de establecimiento en cultivo de tejido *in vitro****

Se coloca en un medio de cultivo estéril el material después de haber sido desinfectado. La duración del periodo de regeneración varía en función de la especie vegetal empleada; algunas, por ejemplo, comienzan a germinar o a regenerar sus tejidos después de una semana o dos semanas. Así comienza el ciclo de cultivo *in vitro* (Castillo, A., 2004).

#### ***1.4.1 Fase de multiplicación en cultivo de tejido in vitro***

La fase de multiplicaciones consiste en obtener la mayor cantidad de posibles de brotes y si de ser posible que inicie la formación de las nuevas hojas. En cada una de las hojas siempre suele tener nuevos brotes, cada de uno de estos se pueden separar e ir colocándolos en un nuevo medio, y de este modo seguir la multiplicación de los explantes. Es necesario realizar cada uno de los procedimientos mencionados anteriormente durante esta etapa en la campana de flujo laminar bajo condiciones estériles (Castillo, A., 2004.; Ruiz A., 2022)

La cantidad de plantas que se obtengan depende mucho del tipo de planta que se está utilizando para la propagación (Castillo, A., 2004).

#### ***1.4.1 Fase de enraizamiento en cultivo de tejido in vitro***

Esta es la etapa en la que se persigue el máximo desarrollo y la creación de raíces nuevas. Su objetivo es garantizar que, antes de que el explante complete su formación como una nueva plántula, cuente con el sustento necesario para sobrevivir al transitar a la fase de aclimatación. Las auxinas se aplican en el medio para estimular la formación de raíces, lo que contribuye al crecimiento y desarrollo de nuevas raíces. Es importante saber que esto depende mucho de la cantidad de material vegetativo utilizado al iniciar la fase. Se recomienda utilizar plantas y explantes jóvenes, y en estado vegetativo, para que la inducción de raíces que es lo que se busca en este estado sea favorable (Ruiz A., 2022).

A veces las citoquininas que se hallan en los tejidos vegetales pueden provocar problemas al formar raíces, incluso con la presencia de auxinas en el medio. Esto varía dependiendo de la cantidad y sólo se puede usar uno solo o combinarlo con alguna otra hormona. El ácido indol-3-butírico, el ácido 1-naftalenacético y el ácido indol-3-acético son los más comunes. Se emplea carbón activado, que contribuye a retener las toxinas presentes en el medio de cultivo. Asimismo, como el medio MS es oscuro y simula un ambiente externo, similar al de la tierra o sustrato, se favorece la formación de raíces y se logra una mejor adaptación durante la fase de aclimatación. (Ruiz A., 2022).

#### ***1.4.2 Fase de Aclimatación del cultivo de tejido in vitro a condiciones ex vitro***

Esta etapa implica trasladar las plantas desde un entorno controlado, como el cultivo in vitro (el diagrama de la micropropagación de plantas se encuentra en la figura 4), a otro ambiente diferente, por ejemplo, los invernaderos. Este proceso es crucial porque facilita la obtención de nuevas plántulas. Debe hacerse con sumo cuidado para evitar estresar a la planta durante el traslado, lo que incrementa su probabilidad de sobrevivir en su nuevo entorno. Los factores principales que pueden afectar a la planta son: las condiciones del sustrato, la luz, la humedad y la temperatura (Ruiz A., 2022).

En realidad, es una de las etapas más críticas y puede ser un obstáculo para lograr el éxito en la micropropagación in vitro. Esto se debe a que la tasa de respiración es baja cuando la planta está en condiciones in vitro, debido a su situación. Cuando se aclimata, aumenta su demanda de necesidades, lo que genera estrés hídrico. Cabe recordar que la planta no realiza fotosíntesis bajo condiciones in vitro; por el contrario, en condiciones ambientales comienza a hacerla para producir sus propios nutrientes (Ruiz A., 2022).

Sin embargo, son plantas susceptibles a ser presa de microorganismos, por venir de un estado completamente aséptico a uno donde existen todo tipo de bacterias, patógenos que pueden encontrarse en el medio ambiente en el que se encuentra y que debe de mantener (Ruiz A., 2022).

Dado que es una fase con muchos problemas, hoy en día se han creado métodos que contribuyen a que este proceso se lleve a cabo con éxito y que las pérdidas sean mínimas. Es importante señalar que hay métodos concretos para distintas especies que ya han sido cultivadas con esta técnica (Ruiz A., 2022).

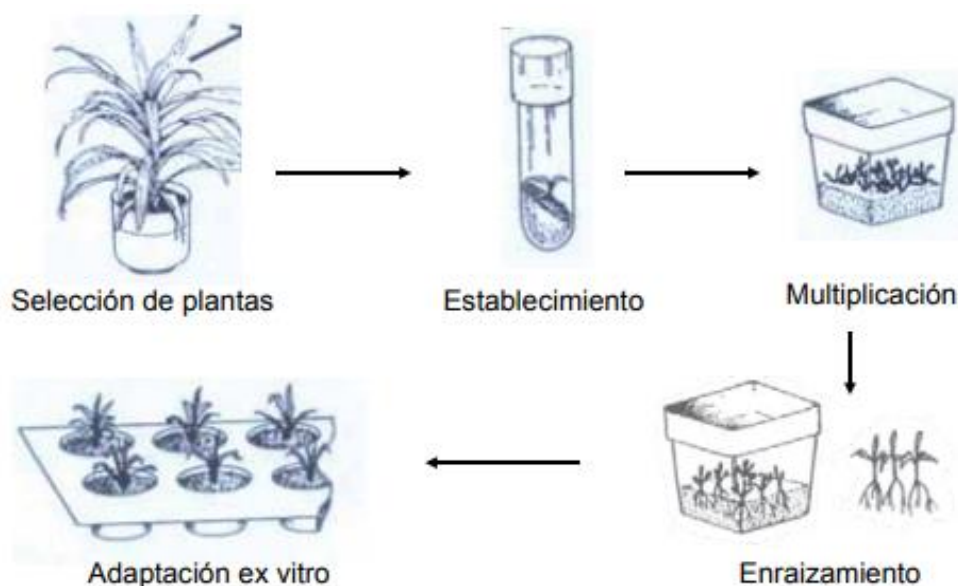


**Figura 4.** Esquema del proceso de micropropagación (Suárez, E., 2020).

## 1.5 Medio de cultivo

En esta etapa, el medio de cultivo tiene un rol crucial por su composición: un agente gelificante (si se trata de medios semisólidos), nutrientes minerales, una fuente de carbono, sustancias reguladoras del crecimiento y compuestos vitamínicos. Por lo tanto, el equilibrio que la planta requiere durante sus periodos en el cultivo *in vitro* (Ruiz A., 2022).

### 1.5.1 Composición del medio de cultivo

La técnica de cultivo de tejido *in vitro* requiere un medio de cultivo, que juega un papel esencial en este proceso. Uno de sus roles es reemplazar el sustrato, proporcionando los nutrientes y el entorno necesarios para que el material vegetativo pueda desarrollarse. El medio de cultivo cambia según la clase de explante que se esté empleando.

Se compone básicamente de agua, la cual puede ser de hasta el 95% de cualquier tipo de medio, se compone de sales minerales, compuestos orgánicos, también se pueden llegar a utilizar o adicionar complejos naturales para enriquecerlo, el gelificante da a la planta el soporte que esta necesita (Ruiz A., 2022).

#### ***1.5.1.1 Agua en la composición del medio de cultivo***

Como el agua es uno de los componentes más importantes que constituyen el medio de cultivo, se debe a que es el medio donde se realiza la solución de cada uno de los compuestos que se utilizan, por lo que la calidad del agua debe de ser buena, con la finalidad de no causar algún tipo de alteraciones al medio y que esta sea eficiente. Por lo que es recomendable utilizar el agua más pura y limpia posible: como agua destilada o agua estéril (Ruiz A., 2022).

#### ***1.5.1.2 Sales minerales en la composición del medio de cultivo***

Una de las características del medio de cultivo son la composición de las sales minerales en concentraciones adecuadas, como son los micro y macroelementos que en total son aproximadamente 16 nutrientes minerales (Krikorian, A. D., 1991).

Murashige y Skoog crearon un medio nuevo en 1962, en el que la concentración de sales minerales era veinticinco veces más alta que la de la solución de Knop. Específicamente, los niveles de NO<sub>3</sub> y NH<sub>4</sub> fueron más altos y aumentaron las concentraciones de micronutrientes. Esta formulación de medio (MS) posibilita incrementar la cantidad de especies que tienen la capacidad de ser empleadas para esta técnica de cultivo *in vitro*, por lo que el medio MS es el más frecuentemente empleado y adoptado en los procedimientos para cultivar tejidos vegetales (Rojas, G. V., 2016).

#### ***1.5.1.3 Compuestos Orgánicos en el medio de cultivo***

Los compuestos orgánicos son los que están constituidos mayormente por carbono, por lo que en el medio de cultivo sus componentes son los carbohidratos, vitaminas y los reguladores de crecimiento. También se pueden utilizar aminoácidos, ácidos nucleicos como purinas y pirimídicas, incluso se han llegado a utilizar ácidos orgánicos (Ruiz A., 2022).

**Carbohidratos:** Se emplean como fuente de energía, aunque las plantas generan su propia comida y energía, en condiciones *in vitro* su situación es completamente diferente, como se encuentran en un ambiente controlado y con poca cantidad de luz su fotosíntesis es muy baja, por lo que es necesario adicionar carbohidratos para sustituir esta necesidad, una de las más utilizadas es la sacarosa de entre 2% a 5%, dependerá del tipo de cultivo o explante vegetativo que se emplee (Hernández, C., *et al.* 1999).

**Vitaminas:** Los medios de cultivo tienen distintas variedades de vitaminas, según la especie que se vaya a emplear. Sin embargo, un conjunto de vitaminas fundamentales y que se usan a menudo son las tiaminas (Mroginski L., Roca W., 1991; Rojas G., 2016).

#### ***1.5.1.4 Complejos naturales***

Son compuestos que en ocasiones no son necesarios y en otros casos se adiciona con la finalidad de enriquecer el medio de cultivo, se han empleado distintas composiciones algunas de ellas son: la pulpa de plátano (150 g L<sup>-1</sup>), el endospermo de coco (10 a 20 %), el extracto de malta (500 mg L<sup>-1</sup>), el jugo de naranja (3 a 30 %), el hidrolizado proteico en concentraciones que van desde 30 hasta 3000 mg L<sup>-1</sup>, el jugo de tomate (30 %) y el extracto de levadura (50 a 5000 mg L<sup>-1</sup>) son solo algunos ejemplos; hay otros muchos más que contribuyen a estimular la expansión vegetal (Ruiz A., 2022).

#### ***1.5.1.5 Agentes gelificantes***

Los agentes gelificantes vegetales tienen como función sostener al explante, su composición ayuda a que el medio de cultivo se mantenga en un estado semisólido. El agar es un compuesto de polisacáridos que se obtiene de la pared de las algas rojas y se añade en una proporción del 0,6 al 1%, considerando la pureza del agente gelificante. La razón de esto es que, debido a sus propiedades químicas y físicas, es el gelificante más usado en las técnicas de propagación *in vitro*., sin embargo, también es uno de los más caros en la preparación del medio de cultivo debido a que su costo total se eleva a 70% del medio de cultivo a utilizar (Reyes M., 2021).

### ***1.5.2 Tipos de medios de cultivo***

Los medios de cultivo, que pueden ser de varias clases, se dividen en semisólidos y líquidos. Cada uno cumple con su propio propósito; por ejemplo, los semisólidos contienen agentes gelificantes que sostienen a la planta. En cambio, en medios líquidos no se emplean los mismos compuestos que en los semisólidos (Mondino, P., 2009; Ruiz A., 2022).

#### ***1.5.2.1 Medio semisólido***

El medio semisólido por su agente gelificante mantiene a la planta estable, es uno de los utilizados en el cultivo *in vitro*, solo se introduce una pequeña parte del explante el cual

ayudará a que esté absorbiendo los nutrientes necesarios. Aunque es el más utilizado el principal problema de este tipo de medio es que se coloca en pequeños recipientes reduciendo así el crecimiento del explante y que hay que estar cambiando el medio conforme esta va creciendo la planta (Ruiz A., 2022).

#### ***1.5.2.2 Medio líquido***

El medio líquido no contiene agentes gelificantes solo-nutrientes, el cual se utiliza principalmente para los sistemas de inversión temporal, y sin embargo el contacto debe de ser por periodos de tiempo muy cortos, porque el estar mucho tiempo en contacto con el explante puede causar algún tipo de daño como estrés hídrico y posteriormente necrosar el material vegetativo por la cantidad de agua en la que encuentra (Ruiz A., 2022).

### **1.6 Reguladores de crecimiento**

Las fitohormonas son moléculas orgánicas que están presentes en el medio en cantidades reducidas, son las encargadas de estimular el desarrollo del cultivo incluso pueden causar modificaciones en los estados fisiológicos de la planta. Pueden llegar a ser controlables y ser sintetizados, más sin embargo, en cantidades un poco más grandes suelen inactivar las células de los explantes (Reyes M.,2021).

Uno de los conceptos hormonas, es incluir otras sustancias como son: las poliamidas y el ácido salicílico, que no presentan la misma propiedad de ejercer este efecto que poseen las hormonas vegetales, más ayudan a regular y alterar el crecimiento vegetal provocando que la planta responda como si fueran las hormonas vegetales de la misma (Vasco C., 2020).

#### ***1.6.1 Tipos de reguladores de crecimiento***

Existen varios tipos de reguladores de crecimiento que ayudan a la planta a cumplir algunas funciones. Aunque la mayoría solo se dedica al crecimiento y desarrollo de una parte específica de la planta. Pueden actuar en tejidos dependiendo del tipo o pueden ser transferidos por medio del xilema y floema (Ordóñez D., 2021).

Hoy en día, se conocen distintos tipos de reguladores de crecimiento, cada uno con la responsabilidad de regular la función vegetal y acelerar su crecimiento. Pueden ser de origen sintético, natural o químico. Entre los reguladores del crecimiento de las plantas

que se emplean con mayor frecuencia en la propagación de cultivos in vitro están las citoquininas auxinas, las giberelinas y otros más (Ordóñez D., 2021; Reyes M., 2021).

#### ***1.6.1.1 Auxinas***

Una de las de fitohormonas más conocidas son las auxinas, son reguladores de crecimiento vegetal. Las auxinas fueron descubiertas en 1920 y su nombre provienen del griego que significa “crecer” (Ordóñez D., 2021).

Se les llama auxinas debido a que sus compuestos tienen la propiedad de fomentar el desarrollo de células en los vástagos. El ácido 3-indolacético (AIA) es una de las auxinas naturales más empleadas y más ampliamente distribuidas. No obstante, estas hormonas tienden a impactar otras áreas de la planta además de incrementar su crecimiento. A pesar de eso, se emplea más a menudo en el cultivo de tejidos vegetales debido a que es uno de los reguladores más eficaces y por su bajo coste (Vasco C., 2020).

#### ***1.6.1.2 Citoquininas***

Estas fitohormonas son promotoras de la división celular. Se conocen por que intervienen en varios procesos fisiológicos vegetales como una de las más conocidas es la fotosíntesis. Es también un regulador de crecimiento (como las axinas). Se descubrieron en la época de 1950 (Ordóñez D., 2021).

Reyes (2021) menciona que las citoquininas son las hormonas de mayor importancia por ser derivadas del nitrógeno, que es un elemento importante para la organogénesis, que fomenta la división y diferenciación celular en el desarrollo de órganos, además de colaborar con la regulación de ciertos procesos fisiológicos vegetales. Una de las citoquininas más utilizada es el Bencil Amino Purina (BAP).

#### ***1.6.1.3 Giberelinas***

A lo largo del tiempo, han probado ser indispensables para el cultivo de tejidos de una variedad de especies por ser estimuladoras de alargamiento celular de tallos y pedúnculos florales, provienen de un hongo llamado *Giberella fujikuroi* (*Fusarium heterosporium*), son hormonas sintéticas denominadas giberelinas. Además, ayudan a los brotes y las semillas a suspender el periodo de dormancia. Son empleadas en los diferentes medios de cultivo y más conocido es el ácido giberelico (AG3) (Reyes M., 2021; Vasco C., 2020).

### ***1.6.2 Importancia de los reguladores de crecimiento***

Son una parte significativa del sistema interno del explante que regula sus funciones y hoy en día están ampliamente empleados en las técnicas de cultivo de tejidos vegetales. Contribuyen a la sustitución de otras hormonas esenciales para la planta, lo que regula y fomenta su crecimiento. El uso de reguladores de crecimiento junto con el medio MS acelera el crecimiento de las plantas en cultivo *in vitro*, lo que contribuye a disminuir el tiempo de propagación (Ordóñez D., 2021).

### **1.7 Sistema de inmersión temporal**

La propagación *in vitro* es una de las técnicas más convencionales que tiene la biotecnología, la cual presenta una limitación en cuanto a la propagación de plantas de forma masiva (Vilchez, J., & Albany, N., 2014). Esto ha llevado a los investigadores a generar nuevas técnicas de biotecnología para la propagación y desarrollo de plantas. Una de ellas es la inmersión temporal, que hoy en día tiene múltiples sistemas disponibles, como el SIT o el RITA. Uno de los beneficios de los sistemas de inmersión temporal son sencillos de edificar y el mantenimiento es asequible, el medio cultivo que se utiliza para estos sistemas es líquido el cual reduce los costos de utilización de reactivos (Sharry, S., *et al.* 2015), son controlados por medio de inmersiones temporales donde se le ajusta la duración y frecuencia de manera automatizada, otra ventaja es que el cambio de medio de cultivo es más fácil no hay necesidad de cambiar el recipiente, reduciendo el cambio de subcultivo. El crecimiento es mayor comparado con el medio de propagación convencionales que es el medio semisólido (Vilchez, J., & Albany, N., 2014).

Cuadro 2. Algunas especies de orquídeas micropropagación por germinación asimbiótica de semilla (Mosqueda, M. A. R., *et al.* 2023).

| Especies                                            | Medio de Cultivo                                          |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <i>Catleya</i>                                      | Knudson                                                   |
| <i>Dendrobium tasaense matino</i>                   | Murashige y Skoog                                         |
| <i>Odontoglossum gloriosum</i>                      | Hydro-Coljapw <sup>®</sup> + ácido naftalenacetico        |
| <i>Vanda hybrids</i>                                | Medio Phytotechnology Orchid Seed <sup>®</sup>            |
| <i>Epidendrum ibaguense</i>                         | Mitra medio                                               |
| <i>Cyrtopodium punctatum</i>                        | Medio Phytotechnology Orchid Seed <sup>®</sup>            |
| <i>Hoffmannseggella cinnabarina</i>                 | Knudson C +Benciladenina                                  |
| <i>Cymbidium aloifolium</i>                         | Murashige y Skoog + Benciladenina + ácido naftalenacetico |
| <i>Vanda dearei</i>                                 | Knudson C                                                 |
| <i>Dendrobium</i>                                   | Revisión (todo tipo de medio de cultivo)                  |
| <i>Dendrobium hookerianum</i>                       | Murashige & Skoog                                         |
| <i>Hadrolaelia grandis</i>                          | Vacin & Went + Tidiazurón                                 |
| <i>Paphiopedilum insigne</i>                        | 1/2 Murashige & Skoog + Kinetina + ácido Indolacetico     |
| <i>Laeliocattleya hybrid</i>                        | Murashige & Skoog + Compuestos Orgánicos                  |
| <i>Dendrobium officinale</i>                        | 1/2 Murashige & Skoog                                     |
| <i>Stanhopea tigrina</i>                            | Murashige & Skoog + Compuestos Orgánicos                  |
| <i>Paphiopedilum tigrinum</i>                       | 1/2Murashige & Skoog + Kinetina                           |
| <i>Anacamptis longicornu and Ophrys panormitana</i> | Medio Orchimax                                            |
| <i>Cymbidium whiteae King &amp; Panti.</i>          | Murashige & Skoog + Benciladenina                         |
| <i>Guarianthe bowringiana</i>                       | Knudson C                                                 |

## 1.9 Estudios previos

C. A. Vasco Ávila y su equipo realizaron un estudio de investigación en 2020, al que denominaron: Valoración de la aclimatación y el enraizamiento *in vitro* de las plántulas del *Epidendrum ibaguense*. En la que se evaluaron tres clases distintas de reguladores de crecimiento: AIA, IBA y ANA. En el marco de los resultados logrados y tras realizar

los análisis correspondientes, se llegó a la conclusión de que ANA y AIA fueron los mejores reguladores del crecimiento, ya que empezaron con el desarrollo de raíces alrededor del día 20.

En 2007, la investigación de Condemarín-Montealegre, CE, Chico-Ruiz, J., y Vargas-Artaega, Claudia analizó el impacto del ácido indolbutírico (IBA) y la 6-bencilaminopurina (BAP) en el crecimiento *in vitro* de las yemas axilares de *Encyclia microtos* (Rchb. F.) Hoehne (Orchidaceae). Los resultados fueron altamente positivos, ya que se lograron excelentes resultados en el crecimiento de yemas axilares, con el doble de estas. No solo fue un aumento en la cantidad, sino también se benefició la raíz, las hojas y el tamaño de la planta.

En el año 2022, Cárdenas Guarín, J. H., Sigarroa Rieche, A. K. y Salazar Mercado, S. A. llevaron a cabo un estudio al que denominaron Aplicación de semillas artificiales como método para la conservación *in vitro* de orquídeas. En este caso, emplearon una técnica de conservación *in situ*, que es poco usada y que, junto con la del cultivo de tejidos vegetales, presenta grandes dificultades para su realización. Esta técnica contribuye a preservar los explantes para su uso posterior en la propagación *in vitro* del cultivo de tejidos vegetales. En resumen, se puede afirmar que existen múltiples métodos y ventajas al utilizar la biotecnología para conservar y propagar.

Segretín, M. E., en 2006 publicó en una revista informativa de Argentina el tema de: Los cultivos celulares y sus usos II (cultivos de células de plantas). Donde se refiere a ciertas ventajas de emplear las técnicas de cultivos vegetales, y menciona que la capacidad celular determina el éxito en la propagación de la planta. Lo que señala que no siempre se logran los resultados deseados.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material Biológico

#### 2.1.1 Selección del material vegetativo

Para realizar el proyecto de tesis como material vegetativo se utilizaron algunas variedades híbridas de orquídeas *in vitro* e *in vivo* en la figura se 5 se pueden observar el material utilizado. Las que estaban en cultivo *in vitro* eran plantas de *Dendrobium* y *Cymbidium* la cual se adquirieron de la empresa In Planta que se encuentra localizada en Córdoba Veracruz. Las que se encontraban en cultivo *in vivo* eran de *Dendrobium blanca* tomada de una colección privada, la parte utilizada fueron hojas y pseudobulbos.

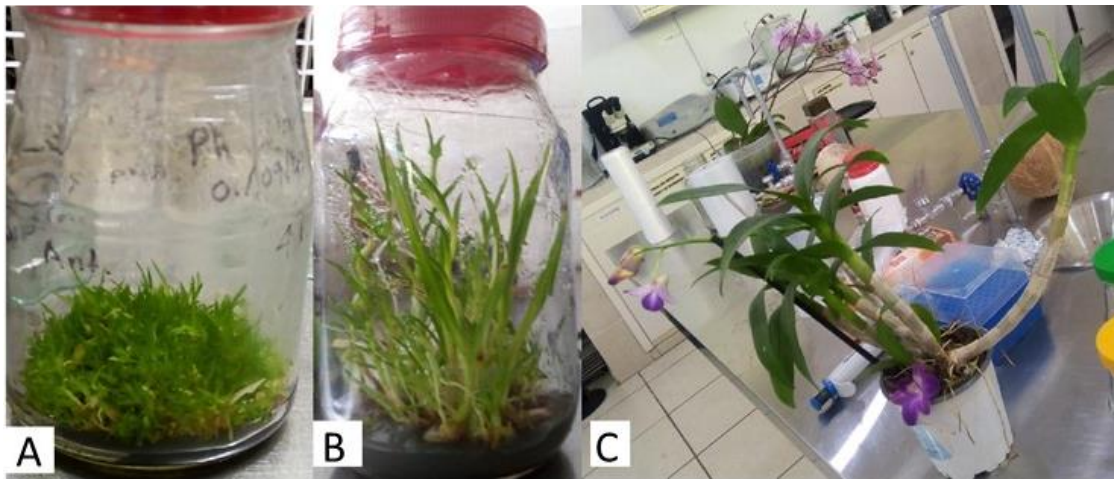


**Figura 5.** Material vegetativo a utilizar, A) plantas *in vitro* de *Dendrobium*, B) *Cymbidium*, C) Planta *in vivo* de *Dendrobium*.

#### 2.1.2 Preparación de medio de cultivo

Para orquídeas, se empleó medio de cultivo basal (MBO) (ver figura 6). Este incluye: MS (la formulación del medio está en el ANEXO 7, Murashige y Skoog 1962) de 2.2 g/L, complementado con 100 ml de agua de coco, 30 g/L de azúcar y 1 g/L de carbón activado extraído de cáscara de coco (tamaño del grano: 100 micras; KARBON-GROUP TLAQUEPAQUE México). Se empleó Gellan Gun Power USA como gelificante a un nivel de concentración del 4 % y se emplearon además 900 ml de agua Santorini en garrafón (20 litros).

Después de que el medio de cultivo ha sido preparado, se pone en frascos de vidrio de 170 g y de 190 g se vierte una pequeña cantidad en la figura 6 se puede observar cómo

es el medio basal para orquídeas y como se coloca en los frascos, y posteriormente pasa al proceso de esterilización. Como los recipientes son de vidrio solo se coloca la tapa y se pasan a la autoclave o una olla de presión dependiendo con lo que cuente el laboratorio.



**Figura 6.** Medio de cultivo basal para orquídeas.

### ***2.1.3 Armado del sistema de inmersión temporal para orquídeas.***

Se necesita un frasco de un litro para la construcción de sistemas de inmersión temporal y otro de dos litros con tapadera, filtros de aire de 0.2  $\mu\text{m}$  (Midisart SARTORIUS Alemania), manguera de silicón de 0.6 mm de diámetro, conectores de bronce para manguera de 0.5 de diámetro, tuercas de seguridad, dos tubos de aluminio uno de 15 cm de largo de 0.5 milímetro de diámetro. Esponja de poliuretano y un soporte de plástico para retención de la esponja.

Primero en las tapas de los frascos se les hace dos aberturas una en el medio y la otra un 1.5 cm más retirada de la primera de con ayuda de un taladro esto para poder colocar las conexiones de cobre en la cual se sustituye la tuerca que estas trae, con una tuerca de seguridad ajustándolas muy bien para evitar las fugas de aire. Una vez que las tapas estén listas, se toma un trozo de manguera de silicón de unos 35 cm de largo y se conectan ambas tapaderas en el primero conector que es el del medio, y al segundo conector se le coloca un pedazo de manguera de silicón de unos 4 cm de largo y posteriormente se le pone un filtro de aire (los filtros se colocan a cada tapadera), este proceso es para la parte de arriba de las tapas. En la parte de debajo de las tapas al conector del medio se coloca un tubo de aluminio a una de las tapas el de 15 cm y al

otra el de 17 cm, para conectarlas se utilizó un poco de manguera a de silicón, a la tapa que tiene el tubo de aluminio más grande y se conecta al soporte de plástico circular de 5 cm de diámetro el cual ya cuenta con un pequeño orificio en el centro.

Se corta la esponja en forma circular del 12 cm de diámetro se le realiza un pequeño orificio en medio de la esponja (el tamaño depende frasco a utilizar) que es tamaño del fondo del frasco de 2 litro, colocamos la esponja adentro del frasco.

Una vez que cada pieza se encuentre lista se colocan las tapas al frasco de 2 litros se pone el que tiene el soporte y el otro se coloca en el de un litro, este paso se muestra mejor en las fotos de la figura 7 que es como queda el sistema de inmersión temporal ya una vez que está armado completamente.

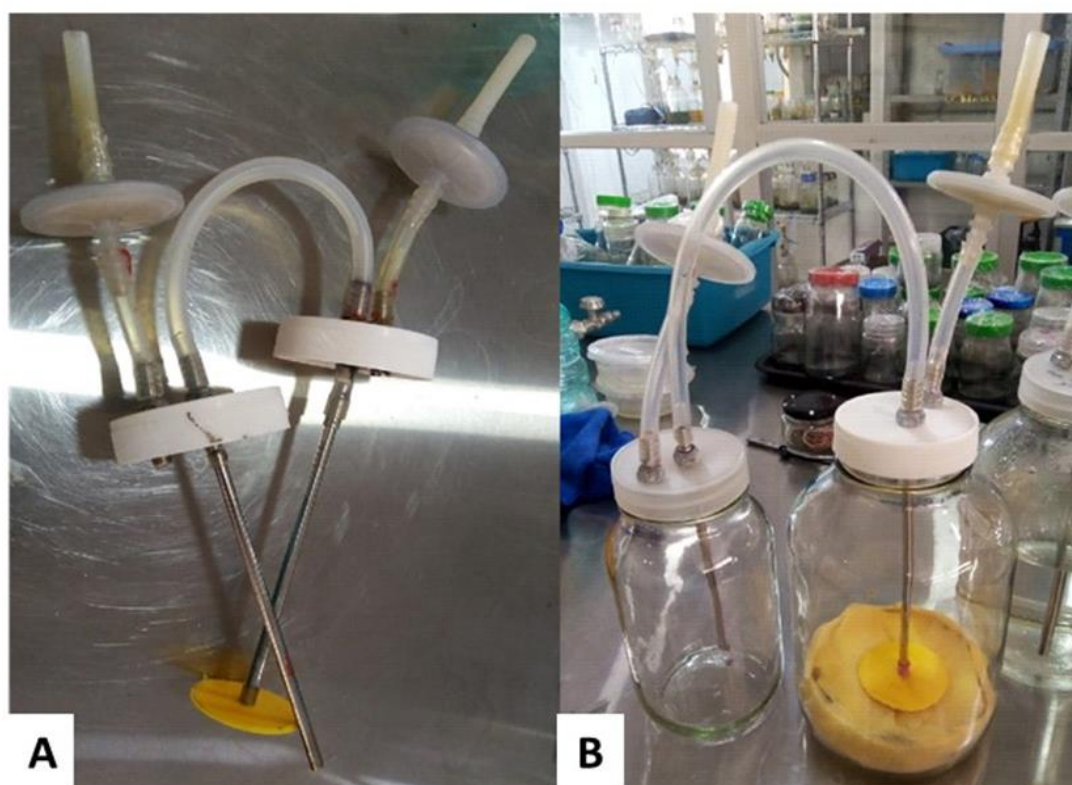


**Figura 7.** Armado del sistema de inmersión temporal. A) Armado de las tapas. B) Sistemas de inmersión armados completamente.

Una vez que se encuentren armado los sistemas de inmersión tal cual se muestra en la figura 7, se pasan al proceso de esterilización en la autoclave, se envuelve la manguera y los filtros con papel aluminio posteriormente se colocan los frascos en bolsas de plástico dejando completamente cubiertos ambos frascos, el medio de cultivo es un

medio es líquido una vez preparado pasa a ser esterilizado junto con los sistemas de inmersión.

#### **2.1.4 Desinfección del material vegetativo de híbridos de orquídeas.**

Desinfección de pseudobulbos y hojas de *Dendrobium*.

1.- Se lava con agua y jabón, con el uso de un cepillo de cerdas suaves, se talla con mucho cuidado, tanto las hojas como lo Pseudobulbos.

2.-Se realizó un enjuague con agua de garrafón, se cortaron las hojas y los pseudobulbos en pequeños trozos de aproximadamente 1.5 a 2 cm.

3.- Se comienza el procedimiento de desinfección dentro de la campana de flujo laminar.

Primero se colocan las muestras de tejido vegetal (hojas y pseudobulbos) en un fungicida (Tecto 60) por 20 minutos, posteriormente se colocan en tween 20 por 20 minutos, en etanol a 70 % por 30 segundos, se pasan a cloro al 5% por un cuarto de hora y, finalmente, se lavan tres veces con agua estéril.

Para pseudobulbos se realiza en el segundo experimento de la siguiente manera: se colocan las muestras de tejido vegetal (pseudobulbos) en un fungicida (Tecto® 60) por 20 minutos, posteriormente se colocan en tween 20 (TWEEN® 20) por 20 minutos, se pasan a cloro al 5% por 15 minutos y por último se enjuagan tres veces con agua esterilizada.

En el tercer experimento se colocan las muestras de tejido vegetal (hojas y pseudobulbos) en un fungicida (Tecto® 60) por 20 minutos, posteriormente se colocan en tween 20 (TWEEN® 20) por 15 minutos, en etanol a 70 % por 30 segundos (este paso no aplica para pseudobulbos), se pasan a cloro al 5% por 10 minutos y por último se enjuagan tres veces con agua esterilizada.

#### **2.1.5 Evaluación de BAP y AIB en explantes de *Dendrobium* y *Cymbidium*.**

Primero se utilizó el MBO al cual se le adiciona 6- Bencilaminopurina y Acido Indol butírico a 3 dosis diferentes (T1, T2 y T3) más el testigo (T0). El medio se ajustó a un pH de entre 5.7-5.8.

Se utilizan plantas de *Dendrobium* y *Cymbidium* provenientes de cultivo *in vitro* en un MBO semisólido. La siembra se realiza seleccionando los explantes que tengan un mayor tamaño y se realizan cortes tal y como se muestra en la figura 8.

Se cuenta con un testigo (T0) que es solo el MBO, y tres tratamientos a los que se adiciona 6- Bencilaminopurina (BAP) en mg/L. Para el tratamiento 1 (T1) se utilizó 1mg/L, en el tratamiento 2 (T2) se adiciona 2mg/L y el tratamiento 3 (T3) se agregó 3mg/L. Se realizan 4 repeticiones por cada tratamiento y se colocan 2 dos explantes a cada frasco. Para el Ácido indol butírico (AIB) es el mismo procedimiento que es de BAP.

Las variables a medir en el tratamiento con BAP fueron número de hojas, longitud de las plantas en centímetro (cm) y el número de brotes. Los datos se recopilan en una tabla. de Excel. En el tratamiento de AIB además de las variables anteriores se adiciona el número de raíces por cada explante.

Posteriormente se establecieron los sistemas de inmersión temporal, se utiliza el MBO sin gelificante y se le adiciona 2mg/L de BAP. Para realizar la evaluación se utilizan plantas en medio semisólido a la misma concentración de BAP.

Se montaron 3 sistemas de inmersión temporal con 10 plantas de *Dendrobium* que median de 2 a 4 cm y de *Cymbidium* que median aproximadamente 5 cm que provenían de cultivo *in vitro*. Para realizar la comparación se tomaron 4 frascos a 2 mg/L de BAP en medio semisólido, cada frasco con 2 o 3 plantas aproximadamente.

Después de realizar las evaluaciones de BAP y de AIB, se toma el mejor tratamiento de cada uno de ellos y Se establece un sistema de inmersión temporal, en este caso 2 mg/L de BAP y 3 mg/L de AIB, además del T0.

Se montaron solo dos sistemas de inmersión temporal donde uno es de *Dendrobium* y el otro es de *Cymbidium* donde se colocan 10 plantas aproximadamente por frasco o sistema, se utilizan plantas que miden de 5cm a 8cm aproximadamente, provenientes de cultivo *in vitro*. Para realizar la evaluación se utiliza el MBO en medio semisólido donde se le adiciona 2 mg/L de BAP y 3 mg/L de AIB en frascos de vidrio de 170 gr realizando 3 repeticiones de cada variedad de orquídea utilizada y cada una con 2 plantas aproximadamente.

Para los sistemas de inmersión temporal, se midieron las siguientes variables: la cantidad de brotes, la longitud por explantes (en cm), la hiperhidricidad y la supervivencia de las plantas tras la aclimatación.



**Figura 8.** Métodos de siembra de explantes vegetativos.

## 2.2 Análisis de datos

Las variables a medir en el medio semisólido fueron: el número de hojas, longitud de las plantas en centímetro (cm), número de raíces por explante y el número de brotes, mientras que para el sistema de inmersión temporal son: número de brotes, longitud por explantes en cm, Hiperhidricidad y supervivencia de las plantas después de la aclimatación. Los datos se recolectaron en tablas de Excel, y posteriormente se realizaron las pruebas de ANOVA y en su caso las pruebas de Tukey en el programa estadístico MiniTab.

## 2.3 Germinación de semillas de orquídea *in vitro*

Las cajas se ubicaron en la habitación de incubación a una temperatura de 24 °C más/menos 1, con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas sin luz, y con una intensidad lumínica de 40  $\mu\text{M m}^{-2} \text{S}^{-1}$ . A los 10 días posteriores a la siembra (dds), de los explantes vegetativos en los recipientes de cada tratamiento. Se utilizaron medios suplementados con distintas dosis de ácido indol-butírico y 6- Bencilaminopurina. (0,1,2,3,4), 30 días después de la siembra se realizaron las primeras evaluaciones de los tratamientos. Para realizar las evaluaciones se eligieron tres zonas de 1 cm y se contaron los escapos al observarlas con un microscopio estereoscópico pseudobulbos y protocormos generados (Santos-Pérez et al 2019). El porcentaje de protocormos generados para todas las muestras se obtuvieron de manera similar a lo descrito. Además, se reportaron los porcentajes de brotación.

El proyecto se llevó a cabo en el Instituto Tecnológico Superior De los Reyes en el laboratorio de biotecnología. Fue financiado por medio de unos de los proyectos en los que ha estado trabajando el MC. Gamaliel Valdivias Rojas dentro del ITSLR.

Una tesis o un artículo de divulgación y participación en un proyecto de un congreso internacional.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Evaluación de BAP (6-benzilaminopurina) y AIB (Ácido indol butírico) en explantes de *Cymbidium*.

Al realizar el análisis de ANOVA que se encuentra en el **ANEXO I** y la prueba de Tukey con un 95 % de confianza, nos arroja que solo se puede encontrar una diferencia significativa en el número de brotes a una concentración de 2 mg/L de BAP, siendo este nuestro tratamiento más efectivo para generar la mayor cantidad de brotes el cual se utilizara en el sistema de temporal, en el cuadro 3 que son lo resultado de *Cymbidium* se puede observar de cuál es el mejor tratamiento. En los tratamientos de 0, 1, y 3 mg/L de BAP no se encuentran diferencias significativas en cuanto a las variables tomadas. Huseein et al., en el 2023, utilizando semillas de *Cymbidium erythrostilium* en medio ms encontró que hay un mayor número de protocormos y brotes a dosis de 2 mg/L por litro de BAP, en cambio Hossain, M. M., et al., en 2010 establecieron un protocolo de propagación *in vitro* Germinación de semillas y cultivo de tejidos de *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl, donde evaluaron cuatro medios de cultivo: Murashige y Skoog (MS), Phytamax (PM), Mitra et al. (M) y Knudson 'C' (KC) y tipos de reguladores de crecimiento 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), donde el mejor resultado fue el M suplementados con 1.0 mg/L de BAP obteniendo un 100% al igual que el medio M y el PM con 2 mg/L de peptona donde también se produjeron un 100% en la germinación, en cambio al agregar 2,4-D en combinación con BAP, el porcentaje de germinación disminuyo. Los resultados obtenidos por Huseein et al., en el 2023 son similares a los obtenidos en la presente tesis donde BAP a 2 mg/L se obtiene un bueno resultado a diferencia de Hossain, M. M., et al., en 2010 donde ellos obtuvieron un mejor resultado a 1 mg/L de BAP, las diferencias se pueden atribuir a que en ambos proyectos utilizaron medios de cultivo diferentes.

Cuadro 3. Resultados de *Cymbidium* en 6-bencilaminopurina. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ )

| Tratamiento | Media                         |                                |                                 |
|-------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|             | No. De hojas de los explantes | No. De brotes de los explantes | Longitud de los explantes en cm |
| 0 mg/L      | 11.63 a                       | 3.125 b                        | 6.75 a                          |

|        |         |               |         |
|--------|---------|---------------|---------|
| 1 mg/L | 15.73 a | 4.636 ab      | 5.00 a  |
| 2 mg/L | 17.08 a | <b>6.17 a</b> | 5.165 a |
| 3 mg/L | 14.00 a | 5.40 ab       | 5.50 a  |

En la **figura 9** podemos ver la diferencia de los explantes vegetativos de *Cymbidium* de cada uno de los tratamientos realizados. Para la recolección de los datos se llevaron a cabo cada 45 días aproximadamente. En la imagen podemos ver que la edad de las plantas era de aproximadamente de 135 días después de la siembra y fueron los datos que se tomaron en cuenta para el análisis de ANOVA y la prueba de Tukey.

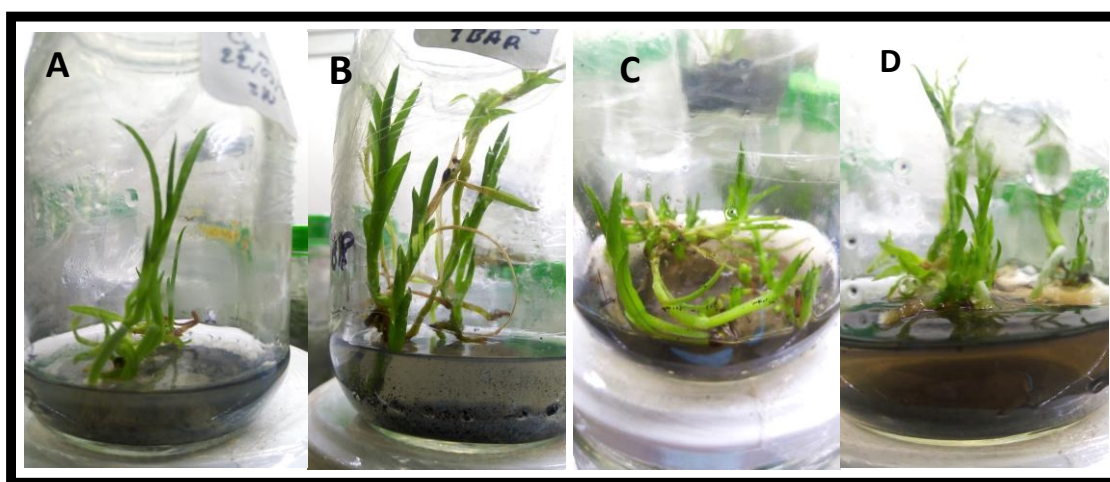


**Figura 9.** Explantes vegetativos de *Cymbidium* en BAP A) 0 mg/L, B) 1 mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L.

En análisis de ANOVA que se encuentra en el **ANEXO II** y de la prueba de Tukey con un 95 % de confianza, muestra que no existe alguna diferencia significativa en los tres tratamientos realizados durante todo el proceso en cuadro 4 podemos observar los resultados. En cambio, Huseein y otros, en 2023 reporta que, en la etapa de enraizamiento, bajo condiciones *in vitro* en medio MS al 50%, adicionando de 0.5 mg/L AIB, 1 g/L de carbón vegetal y 50 g/L de puré de plátano, se generan mayor número de raíces, además al agregar 100 mL/L de agua de coco se obtiene un alargamiento en las raíces, sin embargo, Pant, B., y Swar, S. en 2012 ellos obtuvieron un mejor resultado al agregar 1 mg/L de AIB para generar mayor número de hojas de *Cymbidium iridioides* D. Don. Nuestros resultados fueron diferentes en comparación con los de Huseein, sin embargo, la diferencia de resultados se puede atribuir a que utilización una variedad

diferente de híbridos de *Cymbidium*, además de que ellos le adicionaron pure de plátano y a las condiciones propias del área experimental.

Cuadro 4. Resultados de *Cymbidium* en Ácido indolbutírico. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ).

| Tratamiento | Media                          |                               |                                |                                  |
|-------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
|             | No. De raíces de los explantes | No. De hojas de los explantes | No. De brotes de los explantes | Longitud de los explantes en cm. |
| 0 mg/L      | 6.78 a                         | 10.11 a                       | 2.444 a                        | 11.467 a                         |
| 1 mg/L      | 7.89 a                         | 13.22 a                       | 3.556 a                        | 12.50 a                          |
| 2 mg/L      | 5.889 a                        | 6.333 a                       | 1.667 a                        | 9.17 a                           |
| 3 mg/L      | 5.67 a                         | 7.44 a                        | 2.222 a                        | 11.00 a                          |

En la **figura 10** se muestran los explante vegetativo de *Cymbidium* en AIB en las diferentes concentraciones utilizadas durante el proceso de experimentación. En estas imágenes se pueden ver de manera más visibles las hojas, raíces y el tamaño de los explantes. Se realiza una revisión de datos cada 45 días más o menos.



**Figura 10.** Explantes vegetativos de *Cymbidium* en AIB A) 0 mg/L, B) 1 mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L. Fotos tomadas a 90 días aproximadamente después de la siembra de los explantes.

### 3.2 Evaluación de BAP (6-benzilaminopurina) y AIB (Ácido indol butírico) en explantes de *Dendrobium*.

En el cuadro 5 se muestran los resultados de evaluación de *Dendrobium* en las concentraciones de BAP mg/l. En el análisis de ANOVA que se encuentra en el ANEXO

III pág. 70 y de la prueba de Tukey con un 95 % de confianza muestra que en ninguno de los tratamientos realizados durante el proceso de prueba que no existe una diferencia significativa en las diferentes dosis utilizadas. Ario y Setiawan en 2020 realizaron un proyecto para determinar la concentración exacta de BAP en el crecimiento de explantes de *Dendrobium spectabile* mediante la propagación *in vitro*, y reportaban que a una concentración de BAP de 1.50 mg/l, existe una diferencia en el crecimiento de hojas brotes y la altura de los explantes. Sin embargo, Condemarín-Montealegre, *et al.*, en 2007 realizaron un ensayo donde midieron efecto del ácido indol butírico (AIB) y 6-bencilaminopurina (BAP) en el desarrollo *in vitro* de yemas axilares de *encyclia microtos (rchb.f.) hoehne (orchidaceae)* donde dice que ellos obtienen un mejor resultado con 2 mg/L e BAP, que fue donde se obtiene un aumento en la formación de nuevas yemas axilares. Los resultados obtenidos el presente trabajo son diferentes a los que obtuvieron Condemarín-Montealegre, *et al.*, en 2007 y Ario y Setiawan en 2020 donde ellos si tuvieron resultados significativa en los tratamientos al aplicar BAP en el medio MS, en cambio en este caso no se obtiene ninguna diferencia significativa. Los resultados varían dependiendo del tipo la variedad de orquídea utilizada, además de las condiciones de laboratorio.

Cuadro 5. Resultados de *Dendrobium* en 6-bencilaminopurina. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ).

| Tratamiento | Media                         |                                |                                 |
|-------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|             | No. De hojas de los explantes | No. De brotes de los explantes | Longitud de los explantes en cm |
| 0 mg/L      | 31.50 a                       | 7.50 a                         | 6.50 a                          |
| 1 mg/L      | 44.90 a                       | 10.89 a                        | 7.33 a                          |
| 2 mg/L      | 43.30 a                       | 12.00 a                        | 9.89 a                          |
| 3 mg/L      | 31.86 a                       | 9.14 a                         | 4.357 a                         |

En la **figura 11** se observan los explantes de *Dendrobium*, de esta manera podemos ver de manera el tamaño de los explantes y de cómo seleccionamos el tratamiento que se utilizó en el sistema de inmersión temporal.

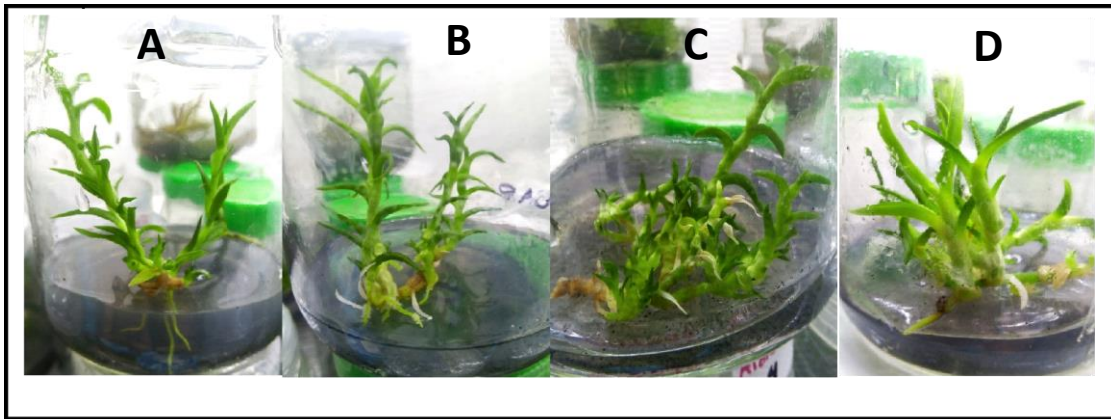


**Figura 11.** Explantes vegetativos de *Dendrobium* en BAP A) 0 mg/L, B) 1 mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L.

Como en el tratamiento de BAP para *Dendrobium* no se obtuvo diferencia en el análisis de ANOVA y la prueba de Tukey, se tomó el tratamiento evaluando las plantas de forma visible, para iniciar el tratamiento en el sistema de inmersión temporal.

Los tratamientos de AIB para *Dendrobium* después de realizar el análisis de ANOVA que se encuentra en el **ANEXO IV** y el análisis de Tukey con un nivel de confianza del 95 % indica que a una concentración de 0 mg/L de AIB se obtiene una diferencia significativa no se observa una diferencia significativa en la longitud de los explantes, ni en el número de hojas, raíces y brotes; los resultados están presentados en el cuadro 6. Por otro lado, a una concentración de 1 mg/L de AIB se observa un incremento notable en el número de hojas y brotes con las que contaba el explante al inicio del tratamiento. Mora y otros en el 2023 realizaron un proyecto donde utilizaron plántulas germinadas en cultivo *in vitro* de *Prosthechea vitellina* (Lindley) donde muestran que a una concentración de 2.0 mg/L de AIB se obtienen mayor número de raíces. A diferencia de los hallazgos de la investigación actual donde la mayor formación de hojas y brotes es a un 1 mg/L de AIB en explantes de *Dendrobium*, que, aunque el ácido indol butírico es una auxina que ayuda al crecimiento de las plantas, cada especie reacciona de diferente manera. Sin embargo, a los explantes aumenta la longitud el en medio basal para orquídeas sin que se le agregue el AIB al medio.

Cuadro 6. Resultados de *Dendrobium* en Ácido indol butírico. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ).

| Tratamiento | Media                          |                               |                                |                                  |
|-------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
|             | No. De raíces de los explantes | No. De hojas de los explantes | No. De brotes de los explantes | Longitud de los explantes en cm. |
| 0 mg/L      | 7.167 a                        | 7.67 bc                       | 2.167 b                        | <b>18.75 a</b>                   |
| 1 mg/L      | 18.33 a                        | <b>22.00 a</b>                | <b>5.667 a</b>                 | 7.17 b                           |
| 2 mg/L      | 16.83 a                        | 15.67 ab                      | 2833 b                         | 7.08b                            |
| 3 mg/L      | 19.5 a                         | 4.667 c                       | 1.667 b                        | 11.83 ab                         |

La figura 12 muestra el desarrollo de las plantas después de 180 días de haber sembrado los explantes vegetativos en un medio que contenía AIB, empleando distintas dosis para la investigación. Se eligió el tratamiento más adecuado y se aplicó en el sistema de inmersión temporal, ya que los resultados del análisis de ANOVA y la prueba de Tukey no estaban disponibles aún.

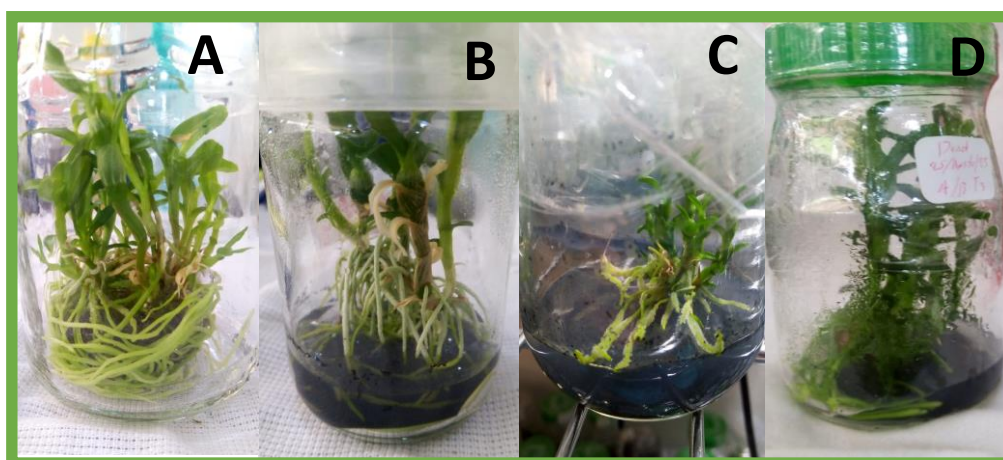


**Figura 12.** Explantes vegetativos de *Dendrobium* en AIB A) 0 mg/L, B) 1 mg/L, C) 2 mg/L y D) 3 mg/L.

### 3.3 Evaluación del número de inmersiones al día en *Cymbidium*.

Después de realizar un análisis de ANOVA con el 95 % de confianza del número de inmersiones por día en la variedad de *Cymbidium*. La reacción de la planta fue muy significativa puesto que si existe una diferencia significativa en la altura de las plantas que se encontraban en el sistema de inmersión temporal es el doble de la altura

comparado con el testigo que es de 0 inmersiones el cual se encontraba en un medio semisólido y su tamaño es menor, en el cuadro 8 se muestran los resultados del número de inmersiones por día en *Cymbidium*. Duarte, A., & Duban, A. (2019) realizaron una Se estandarizó el Sistema de Inmersión Temporal para la micropropagación de la orquídea *Cattleya schroederae*, se estimó el lapso y la periodicidad de inmersión. Para el SIT-1, la frecuencia de inmersión fue de 6 horas (4 veces al día) con un tiempo de inmersión de 3 minutos; para el SIT-2, una frecuencia de inmersión de 4 horas (6 veces al día) y un tiempo de inmersión de 8 minutos; y para el SIT-3, una frecuencia de inmersión de 12 horas (2 veces al día) con un tiempo de inmersión de 20 minutos., el cual su resultado más favorable fue el SIT-1 mostrando mayor cantidad de hojas, altura y brote que fueron los parámetros a medir, ellos evaluaron directamente comparando el tamaño de los explantes de los sistema de inmersión temporal. Evaluando sus resultados con los nuestro podemos ver que a ellos que tiene menor frecuencias al día que fueron 4 veces con una duración de 3 minutos les fue muy favorable, comparándolo con nuestros resultados en *Cymbidium*, son casi similares ya que las frecuencias de nosotros fueron 2, 3, y 5 veces al día por 2 minutos y obtuvimos buenos resultados a diferencia que nosotros tomamos como testigo un medio semisólido. A lo que se llega una conclusión que las orquídeas necesitan una inmersión de menor tiempo y para ellas es más favorable.

Cuadro 7. Resultados del número de inmersión por día en *Cymbidium*. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ).

| Numero de inmersiones por día | Altura promedio de los explantes en cm. |
|-------------------------------|-----------------------------------------|
| 0 inmersiones                 | 2.090 b                                 |
| 1 inmersiones                 | <b>4.480 a</b>                          |
| 2 inmersiones                 | <b>4.810 a</b>                          |
| 3 inmersiones                 | <b>4.760 a</b>                          |

### 3.4 Evaluación del sistema de inmersión temporal a 2 mg/l de BAP de *Cymbidium* y *Dendrobium*.

Se realizó la comparación de un sistema semisólido y un sistema de inmersión temporal con *Cymbidium* y *Dendrobium*, el cual se muestran en el cuadro 8.

En *Cymbidium* después de realizar el análisis de ANOVA que se encuentra en el **ANEXO V pág. 85** y la prueba de Tukey con un 95 % de confianza. los resultados muestran una diferencia significativa en el No. De hojas y el No. De brotes de los explantes que se encontraban en el sistema de inmersión temporal, con respecto al del medio semisólido donde la media es mucho menor que a la de medio líquido, sin embargo en lo que es el número de raíces y la longitud en ambos tratamientos o muestran diferencia significativa. Los resultados del sistema de inmersión temporal y el medio semisólido se representan en el cuadro 8 donde se utilizaron 2 mg/L de BAP. A diferencia *Dendrobium* solo muestra una diferencia significativa, que es en el aumento en el número hojas de los explante que estaban en el medio semisólido, en comparación con las que se encontraban en el medio líquido (sistema de inmersión temporal). En las demás variables que son no hay diferencias relevantes entre los dos tratamientos en cuanto al número de brotes, la cantidad de raíces y la longitud de los explantes; estos últimos se comportan igual. Ruiz Ramírez, J. A. (2016) mejoró la creación y utilización de un protocolo para cultivar *in vitro* la especie *Cattleya rex* (orchidaceae), utilizando explantes y el sistema RITA de inmersión temporal. donde utilizaron complejo B, azúcar, fertilizante Bayfolan, agua destilada y agua de coco. Donde lo que ellos tomaron en cuenta fue el agua de coco variando la cantidad que se le agregaba a cada tratamiento, que al T1 se le agrego 100 ml de agua de coco, al T2 150 ml de agua de coco y al T3 200 ml de agua de coco, su tratamiento testigo fue el que se agrego agua de coco, donde ellos obtiene mayor cantidad de formación y altura de brotes en el tratamiento 1 que es de 100 ml de agua de coco, su testigo Que, aunque en Ruiz Ramírez, J. A., evaluara la cantidad de agua de coco utilizada aun así es sistema de inmersión sigue siendo eficiente en comparación con el medio semisólido, además que después de valorar la tesis anterior podemos ver que el agua de coco puede influir en el crecimiento y la evolución de las orquídeas.

Cuadro 8. Resultados del sistema de inmersión temporal a 2 mg/L de BAP de *Cymbidium* y *Dendrobium*. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ).

| <b>CYMBIDIUM</b>     |                                       |                                      |                                       |                                         |
|----------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>Tratamiento</b>   | <b>Media</b>                          |                                      |                                       |                                         |
| <b>2 mg/L de BAP</b> | <b>No. De raíces de los explantes</b> | <b>No. De hojas de los explantes</b> | <b>No. De brotes de los explantes</b> | <b>Longitud de los explantes en cm.</b> |
| Líquido              | 3.16 a                                | <b>22.67 a</b>                       | <b>11.42 a</b>                        | 5.83 a                                  |
| Semisólido           | 3.17 a                                | 9.33 b                               | 6.083 b                               | 2.883 a                                 |
| <b>DENDROBIUM</b>    |                                       |                                      |                                       |                                         |
| Líquido              | 7.00 a                                | 10.33b                               | 4.778 a                               | 4.22 a                                  |
| Semisólido           | 7.67 a                                | <b>32.22 a</b>                       | 3.889 a                               | 7.67 a                                  |

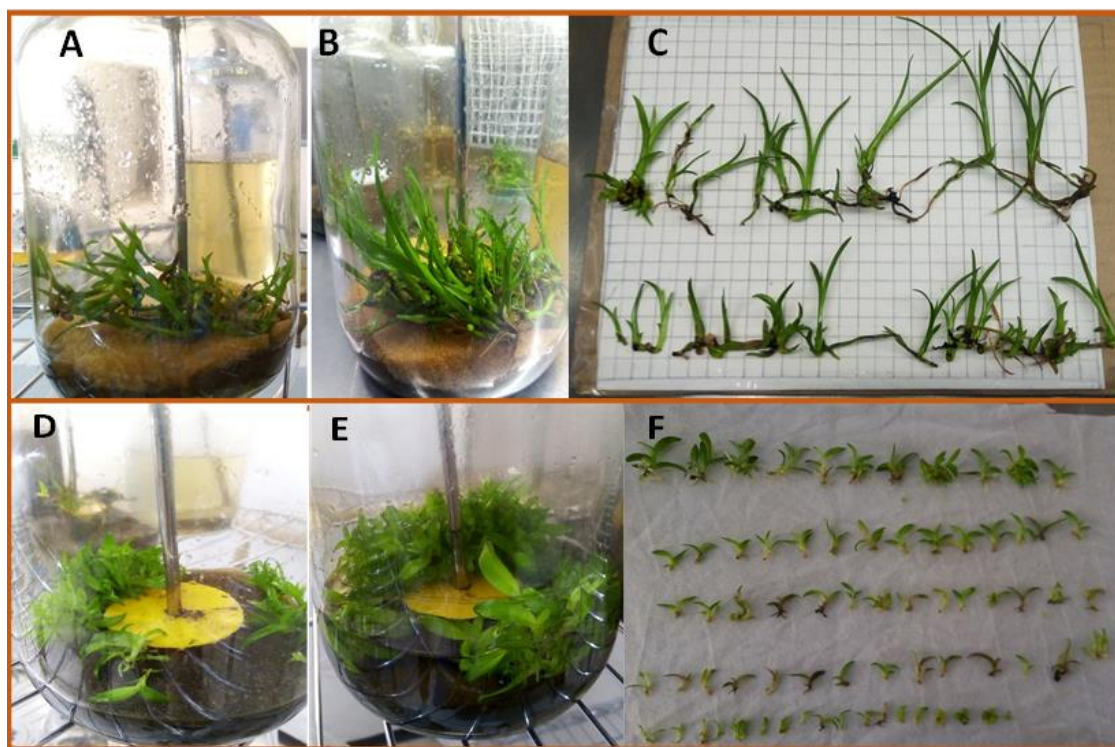


**Figura 13:** A, B y C son de *Cymbidium* y D, E y F son de *Dendrobium* en sistema de inmersión temporal. Donde A y D) muestra cómo se encontraban los explantes el día de la siembra al sistema de inmersión, B y E) 60 días aproximadamente después del tratamiento y C y F) Son las plantas en proceso de aclimatación y fuera del sistema de inmersión temporal.

### 3.5 Evaluación del sistema de inmersión temporal a 2 mg/L de BAP- 3mg/L de AIB de *Cymbidium* y *Dendrobium*.

Después de haber recolectado los datos de *Cymbidium*, se llevó a cabo un análisis ANOVA (encontrado en el Anexo VI, página 94) y una prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%, que reveló una diferencia significativa en la media del número de raíces y en la longitud de los explantes vegetativo que se encontraban en medio líquido en comparación con el medio semisólido. En cambio, en el número de hojas y raíces de los explantes no muestran diferencia alguna en ninguno de los tratamientos. Los resultados se muestran en el cuadro 9. Pernafeil B y Ricardo J en 2023 realizaron un estudio para optimizar la micropropagación de especies de Vainilla utilización Sistemas de Inmersión Temporal, utilizaron distintas frecuencias, con 2 minutos cada una, emplearon un medio de cultivo que consiste en 4.3 gL-1 del medio Murashige y Skoog (MS) con 2.15 mg/L-1 de BAP, 150 mg/L-1 de ácido ascórbico, 35 mg/L-1 de clorhidrato de L-cisteína, y 30 gL-1 de sacarosa; el pH se ajustó a 5.8. donde ellos obtuvieron un resultado muy favorable en los sistemas de inmersión temporal, estos resultados coinciden con los que se obtuvieron en el presente lo que fortalece la idea de que la utilización de sistemas de inmersión temporal es factible para lograr plantas más saludables en un menor tiempo.

Cuadro 9. Resultados del sistema de inmersión temporal a 2 mg/L de BAP- 3mg/L de AIB de *Cymbidium*. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ).

| Tratamiento                | Media                          |                               |                                |                                  |
|----------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
|                            | No. De raíces de los explantes | No. De hojas de los explantes | No. De brotes de los explantes | Longitud de los explantes en cm. |
| 2 mg/L de AIB Y 3 mg/L BAP |                                |                               |                                |                                  |
| Líquido                    | 2.500 a                        | 9.11 a                        | 6.00 a                         | 9.47 a                           |
| Semisólido                 | 1.222 b                        | 5.889 a                       | 3.944 a                        | 4.47 b                           |

En la figura 14 se puede observar la imagen de la diferencia de los explantes tanto en el medio semisólido que es el testigo y en medio líquido o sistema de inmersión temporal.

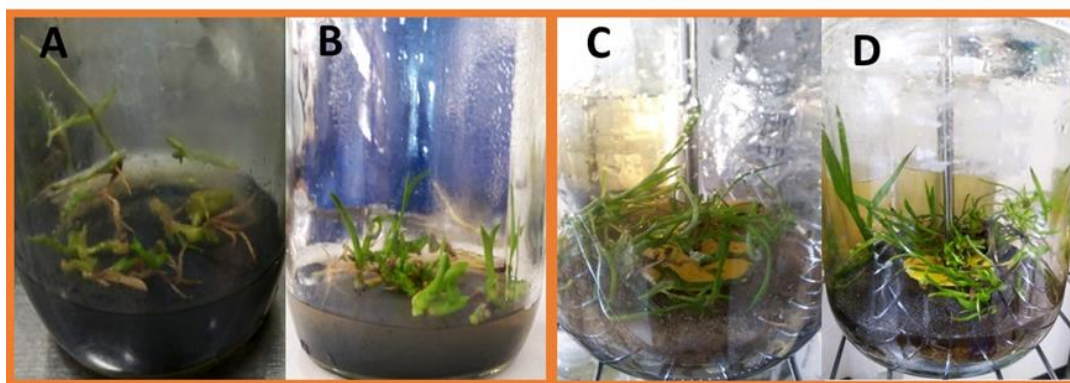


**Figura 14.** Explantes de *Cymbidium* a una concentración de 2 mg/L de BAP- 3 mg/L de AIB. A y B) Se encuentran en medio semisólido y C y D) en sistema de inmersión temporal. Donde A y C) son el primer día de la siembra al medio de cultivo e B y D) nos muestran el crecimiento de los explantes 45 días después de la siembra

Cuadro 10. Resultados del sistema de inmersión temporal a 2 mg/l de BAP- 3mg/l de AIB de *Dendrobium*. Medias con diferente letra son estadísticamente significativas (Tukey  $p < 0.05$ ).

| Tratamiento                   | Media                          |                               |                                |                                  |
|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
|                               | No. De raíces de los explantes | No. De hojas de los explantes | No. De brotes de los explantes | Longitud de los explantes en cm. |
| 2 mg/L de AIB<br>Y 3 mg/L BAP |                                |                               |                                |                                  |
| Líquido                       | 2.813 b                        | <b>11.81 a</b>                | <b>3.938 a</b>                 | 7.175 b                          |
| Semisólido                    | <b>11.44 a</b>                 | 5.438 b                       | 1.938 b                        | <b>11.594 a</b>                  |

Cada variedad de orquídea reacciona de diferente manera en este caso *Dendrobium* una vez que se realiza el análisis de ANOVA que se encuentra en el **ANEXO VI pág. 94** y la prueba de Tukey se establece con un 95% de confianza que, si hay una diferencia importante entre el medio semisólido y el medio líquido, en el cuadro 10 se encuentran los resultados, donde los explantes del medio semisólido tienen un aumento. Se logran mejores resultados en términos de la longitud de los explantes y el crecimiento de nuevas raíces en comparación con el sistema de inmersión temporal. No obstante, en la cantidad de hojas y la cantidad de brotes muestra una diferencia significativa en el medio líquido al aumentar la cantidad de hojas y brotes por explantes.

En la siguiente imagen podemos ver las diferencias de forma más visible tanto en el medio semisólido como el del medio líquido o sistema de inmersión temporal.

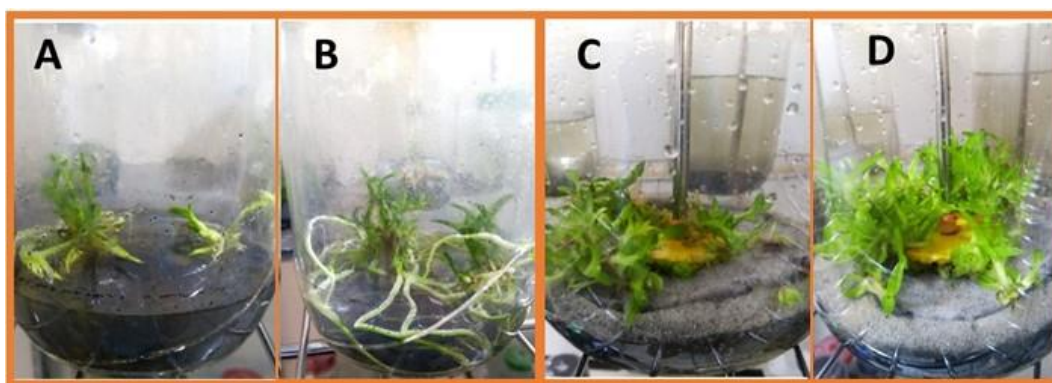


**Figura 15.** Explantes de *Dendrobium* a una concentración de 2 mg/L de BAP- 3 mg/L de AIB. A y B) Se encuentran en medio semisólido y C y D) en sistema de inmersión temporal. A y C) Día de la siembra al medio de cultivo e B y D) 45 días aproximadamente después del tratamiento.

En los explantes que se encontraban en el medio semisólido se nota un crecimiento en las raíces y en crecimiento del tallo no se muestra un crecimiento, en cambio en las de medio líquido el tamaño en altura de tallo es mayor tal cual se muestra en la figura 16 donde el tamaño de la plántula A) es de 10 cm con todo y la raíz y en cambio B) es de 9.5 cm sin la raíz.



**Figura 16.** A) Explantes de medio semisólido. B) Explantes del sistema de inmersión temporal.

#### IV. CONCLUSIONES

Después de realizar las pruebas se determina que a una a 2 mg/L de BAP en *Cymbidium* se obtienen los resultados deseados, siendo así el mejor de los tratamientos, en cambio en AIB donde todos los tratamientos funcionaron de igual manera, sin mostrara cambios en los explantes. En los explantes de *Dendrobium* a cualquiera de las dosis utilizadas se adaptan, en cambio al utilizar AIB a dosis de 1 mg/L es favorable para genera hojas y brotes y i necesitamos aumentar la longitud de los explantes no hay necesidad de agregar algún regulador de crecimiento. Las variedades de *Cymbidium* como *Dendrobium* en las frecuencias de las inmersiones su reacción es muy favorable, su crecimiento es mejor además de generar un ahorro en los costos del gelificante y el espacio. Al utilizar solo BAP en *Cymbidium* su reacción es muy favorable en los sistemas de inmersión aumentado el numero de hojas y brotes de los explantes, en cambio en *Dendrobium* solo hay un aumento en el numero de hojas en el medio semisólido, al combinar 2 mg/L de BAP y 3 mg/L DE AIB en *Cymbidium* aumenta el número de raíces y la longitud de los explantes en el sistema de inmersión temporal, en cambio en *Dendrobium* su reacción es diferente aumenta el numero de hojas y brotes en los explantes en los sistemas de inmersión temporal y en medio semisólido aumenta el número de raíces y la longitud de los explantes. A lo que se pueden poner los explantes en medio semisólido para generar el crecimiento de las raíces y posteriormente se deban de pasar al sistema de inmersión para generar su crecimiento y el aumento de hojas y brotes. Se confirma la hipótesis del presente trabajo ya que se estableció un protocolo eficiente de propagación *in vitro* de explantes vegetativo de orquídea utilizando reguladores de crecimiento a concentraciones adecuadas.

## V. RECOMENDACIONES

- Al realizar la siembra de los explantes es importante considerar el medio de cultivo a utilizar dependiendo de las necesidades del cultivo de tu interés.
- Es importante seguir las reglas de asepsia y seguridad al momento de la siembra, para evitar algún tipo de contaminación.
- Que los explantes a utilizar si son de cultivo *in vitro* ya cuenten con 4 hojas y que midan alrededor de 3 cm, además de que ya contar con raíces en la parte del tallo, para poder realizar los cortes y realizar el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales.
- Si es por medio de una planta que provenga algún vivero o colección privada es importante realizar un proceso de desinfección y tratamiento para eliminar la mayor cantidad de hongos, bacterias o parásitos con los que venga la planta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angarita, A (1984). Cultivo de Tejidos Vegetales" *In vitro*". Colombia: Ciencia y Tecnología, Vol. 2, No. 3, mayo-julio de 1984.
- Álvarez, C. C., López, A. M., Torres, D. G. C., Rico, D. T., & Miranda, J. J. M. (2023). Orquídeas: amenazas de su existencia, formas de conservación y protección. *Jandiekua, Revista Mexicana de Educación Ambiental*, 7(9), 44-59.
- Ario, A., & Setiawan, S. (2020). The effect of benzyl amino purine (bap) concentration on the growth amount of the explant of dendrobium spectabile orchid by in-vitro. *International Journal of Multi Discipline Science*, 3(2), 33-38.<http://dx.doi.org/10.26737/ij-mds.v3i2.2397>
- Barbosa, E. S., Agramonte, D., Barbón, R., Jiménez, F., Collado, R., Pérez, M., & Gutiérrez, O. (2005). Propagación *in vitro* de *Morus alba* L. en medio de cultivo semisólido. *Biotecnología vegetal*, 5(2).
- Bermeo Peñafiel, J. R. (2023). *Optimización del proceso de micropropagación de vanilla odorata C. presl en Sistemas de inmersión temporal (Sits) tipo Rita* (Doctoral dissertation, Universidad Regional Amazónica Ikiam). [http://repositorio.ikiam.edu.ec/jspui/handle/RD\\_IKIAM/747](http://repositorio.ikiam.edu.ec/jspui/handle/RD_IKIAM/747)
- Bidabadi, SS y Jain, SM (2020). Aspectos celulares, moleculares y fisiológicos de la regeneración vegetal in vitro. *Plants*, 9 (6), 702. <https://doi.org/10.3390/plants9060702>.
- Braulio Edgar Herrera Cabrera, Rafael SalgadoGarciglia, Jorge Montiel Montoya, Alejandra Hernández-García, Adriana Delgado Alvarado, Víctor Manuel Ocaño Higuera, Luis Germán LópezValdez, Luz María Basurto González6, Hebert JairBarrales-Cureño6. (2024). *Aplicaciones Biotecnológicas y Medicinales de los Metabolitos Secundarios en Orquídeas.* Frontera biotecnológica.N. 27. <https://revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/volumen/vol27/index.html>
- Cárdenas Guarín, J. H., Sigarroa Rieche, A. K., & Salazar Mercado, S. A. (2022). Aplicación de semillas artificiales como método de conservación *in vitro* de orquídeas.

- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *INIA, Uruguay*.
- Castro, E. J. (2021). *Inducción a Embriogénesis somática en explantes foliares de café: Revisión de literatura* (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2021).
- Condemarín-Montealegre, CE, Chico-Ruíz, J., & Vargas-Artaega, Claudia (2007). Efecto del ácido indolbutírico (IBA) y 6-bencilaminopurina (BAP) en el desarrollo *in vitro* de yemas axilares de *Encyclia microtos* (Rchb. F.) Hoehne (Orchidaceae). *Lankesteriana International Journal on Orchidology* , 7 (1-2), 247-254.
- CONDEMARÍN-MONTEALEGRE, C. E., Chico-Ruíz, J., & VARGAS-ARTAEGA, C. L. A. U. D. I. A. (2007). Efecto del ácido indolbutírico (IBA) y 6-bencilaminopurina (BAP) en el desarrollo in vitro de yemas axilares de *Encyclia microtos* (Rchb. F.) Hoehne (Orchidaceae). *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, 7(1-2), 247-254.
- De las orquídeas en México, U. (2013). Orquídeas: Importancia y uso en México.
- Díaz, M. H. (2013). Manual de cultivo de orquídeas. *México. SEV*.
- García Sánchez, C. (2021). *Colonización micorrícica y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en tres orquídeas endémicas de México* (Doctoral dissertation).
- Goyes Tixi, J. X., & Rojas Buenaño, Y. N. (2021). Estandarización de un protocolo para la propagación in vitro de *Vaccinium corymbosum* (arándano azul) empleando la técnica de inmersión temporal en biorreactores en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales LePlant de la ciudad de Ambato.
- Hernández, C. A., Lopera, M. E., Mora, B. E., & Cárdenas, J. F. (1999). Desarrollo de un protocolo para la propagación masiva de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Bent) mediante la utilización del cultivo de tejidos vegetales in vitro. *Actualidades biológicas*, 21(70), 3-12.

- Hossain, M. M., Sharma, M., da Silva, J. A. T., & Pathak, P. (2010). Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. *Scientia Horticulturae*, 123(4), 479-487.
- Hussien, M., Kryuchkova, V., Raeva-Bogoslovskaya, E. y Molkanova, O. (2023). Micropropagación clonal de *Cymbidium erythrostylum* Rolfe. *Revista Internacional de Biología Vegetal*, 14 (1), 28-38. <https://doi.org/10.3390/ijpb14010003>
- Krömer, T., Viccon Esquivel, J., & Gómez-Díaz, J. A. (2021). Efectos antrópicos sobre la diversidad de epífitas vasculares y orquídeas en el centro de Veracruz. *Las orquídeas de Veracruz*, eds J. Viccon-Esquivel, M. Castañeda-Zárate, R. Castro-Cortés, and W. Cetzal (Xalapa, Ver: Editorial de la Universidad Veracruzana), 235-252.
- Martínez-Martínez, S. Y., Arzate-Fernández, A. M., Alvarez-Aragón, C., Martínez-Velasco, I., & Norman-Mondragón, T. H. (2021). DE INMERSIÓN TEMPORAL, MEDIANTE ORGANOGÉNESIS Y EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24, 84.
- Mroginski, L. A., & Roca, W. M. (1991). Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales *in vitro*. *Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia, 19-40.
- Mondino, P. (2009). Preparación de medios de cultivo. *Métodos en Fitopatología*.
- Mora-Cruz, Y., López-Peralta, M. C. G., Hernández-Meneses, E., & Cruz-Huerta, N. (2023). Regeneración in vitro de plantas de *Prosthechea vitellina* (Lindley) WE Higging por organogenesis directa. *Revista fitotecnica mexicana*, 46(1), 33-40. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.1.33>
- Mosqueda, M. A. R., Aguilar, D. R. L., & Cruz, A. O. (2023). Cultivo de tejidos vegetales aliado en la propagación comercial de orquídeas. *Revista Universitarios Potosinos*, (275), 14-19.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497

- Murguía-González, J., Leyva-Ovalle, O. R., Lee-Espinosa, H. E., Galindo-Tovar, M. E., Pardío-Sedas, V. T., & Llarena-Hernández, R. C. (2016). Sistemas de producción de orquídeas (*Orquidaceae*) en Veracruz, México. *Agroproductividad*, 9(6), 62-66.
- Ordóñez-Blanco, J. C. (2016). Guías del curso teórico-práctico de taxonomía de orquídeas y manejo de colecciones de orquídeas.
- Ordóñez Encalada, D. A. (2021). *Desarrollo de protocolo en la obtención de vitroplantas de Vainilla tahitensis para elongación radicular y caulinar* (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil).
- Pant, B., y Swar, S. (2012). Micropropagación de *Cymbidium iridioides*. *Nepal Journal of Science and Technology*, 12, 91–96. <https://doi.org/10.3126/njst.v12i0.6485>
- Pérez-Martínez, B. A., & Castañeda-Garzón, S. L. (2016). Propagación in vitro de orquídeas nativas como una contribución para la conservación *ex situ*. *Biotecnología Vegetal*, 16(3).
- Perea Dallos, M., González, T., Campos Mosos, H. A., Guillot Monroy, G., & Cogua Suárez, J. E. (2009). Cultivo de tejidos vegetales in vitro: manual de prácticas de laboratorio.
- Ruiz Ramírez, J. A. (2016). Elaboración y aplicación de un protocolo de cultivo in vitro para la propagación de la especie *Cattleya rex* (orchidaceae) a partir de explantes, mediante el sistema de inmersión temporal RITA, con fines de conservación en la provincia de Moyobamba–2014.
- Reyes Ramos, M. G. (2021). *Efecto de la citocinina TDZ tidiazuron en la morfogénesis in vitro de la Vainilla tahitensis* (Bachelor's thesis).
- Romero-Tirado, R., Rosales, B. S. L., & Álvarez, A. B. (2007). Uso de complejos comerciales como sustitutos de componentes del medio de cultivo en la propagación in vitro de *Laelia anceps*. *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, 7(1-2), 353-356.

- Rojas, G. V. (2016). El cultivo de tejidos vegetales: una biotecnología poderosa y prometedora. *Revista Innovación Agrícola*, 1(1).
- Ruiz A. (2022). Protocolo para micropropagación de zarzamora (*Rubus* subgénero *Eubatus*) variedad tupy mediante un sistema de inmersión temporal. Maestría en agrobiotecnología, ITSLR.
- Sánchez, S. H. (2022). Cultivo de tejidos vegetales para propagar y conservar especies mexicanas amenazadas. *Herreriana*, 3(2), 28-32.
- Santacruz, F. Z. (2010). Orquídeas. Fundación Zoológico. Universidad INCCA de Colombia, Grupo de Biotecnología y Medio Ambiente.
- Salgado, J. M., & Gonzalez, L. V. P. (2019). Modificaciones en medios de cultivo aplicadas en conservación y producción in-vitro de orquídeas. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(1), 16-28.
- Segretín, M. E. (2006). Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales). *Consejo argentino para la información y el desarrollo de la biotecnología*, 2, 5-8.
- Sedano, C. G., Manzo, G. A., Roldán, H. R., & Castellanos, J. A. (2015). Propagación *in vitro* de orquídeas y otras ornamentales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1, 451-456.
- Schwarz, O. J., & Beaty, R. M. (2018). Organogenesis. In *Plant tissue culture concepts and laboratory exercises* (pp. 125-138). Routledge.
- Sharry, S. (2015). *Plantas de probeta*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
- Sharry, S., Adema, M., & Abedini, W. (2015). Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro. *Recuperado el*, 25.
- Sugiyama, M. (1999). Organogénesis in vitro. *Opinión actual en biología vegetal*, 2 (1), 61-64.

- Suárez, I. E. (2020). Capítulo 4. Medios de Cultivo. pp 41. Cultivo de tejidos vegetales. Fondo Editorial Universidad de Cordoba. Cra. 6 No. 77 -305 Montería Colombia. ISBN 978-958-5104-09-9.
- Téllez-Velasco, M. A. A., & Tejeda-Sartorius, O. Orquídeas.
- Téllez-Velasco, M. A. A., & Tejeda-Sartorius, O. (2017). Importancia y aprovechamiento sustentable de productos forestales no maderables en bosques de niebla: estudio de caso en Orquídeas. *AGROProductividad*, 10(6), 46-54.
- Vasco Ávila, C. A. (2020). Evaluación del enraizamiento *in vitro* y aclimatación de plántulas de la orquídea *Epidendrum ibaguense*.
- Vilchez, J., & Albany, N. (2014). Multiplicación *in vitro* de *Psidium guajava* L. en sistemas de inmersión temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(2), 96-103.

## ANEXOS

### ANEXO 1. Análisis de ANOVA y prueba de TUKEY de *Cymbidium* de BAP.

#### **CYMBIDIUM BAP**

#### **ANOVA de un solo factor: No. Hojas vs. Tratamiento BAP ml-1**

##### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

##### **Información del factor**

| Factor               | Niveles | Valores        |
|----------------------|---------|----------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 4       | T0, T1, T2, T3 |

##### **Análisis de Varianza**

| Fuente               | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|----------------------|----|-----------|-----------|---------|---------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 3  | 158.6     | 52.88     | 1.22    | 0.316   |
| Error                | 37 | 1605.0    | 43.38     |         |         |
| Total                | 40 | 1763.6    |           |         |         |

##### **Resumen del modelo**

| R-<br>S cuadrado | R-<br>cuadrado (ajustado) | R-<br>cuadrado (pred) |
|------------------|---------------------------|-----------------------|
| 6.58617          | 8.99%                     | 1.62%                 |
|                  |                           | 0.00%                 |

##### **Medias**

| Tratamiento BAP ml-1 | N  | Media | Desv.Est. | IC de 95%      |
|----------------------|----|-------|-----------|----------------|
| T0                   | 8  | 11.63 | 3.89      | (6.91, 16.34)  |
| T1                   | 11 | 15.73 | 5.97      | (11.70, 19.75) |
| T2                   | 12 | 17.08 | 8.01      | (13.23, 20.94) |
| T3                   | 10 | 14.00 | 6.98      | (9.78, 18.22)  |

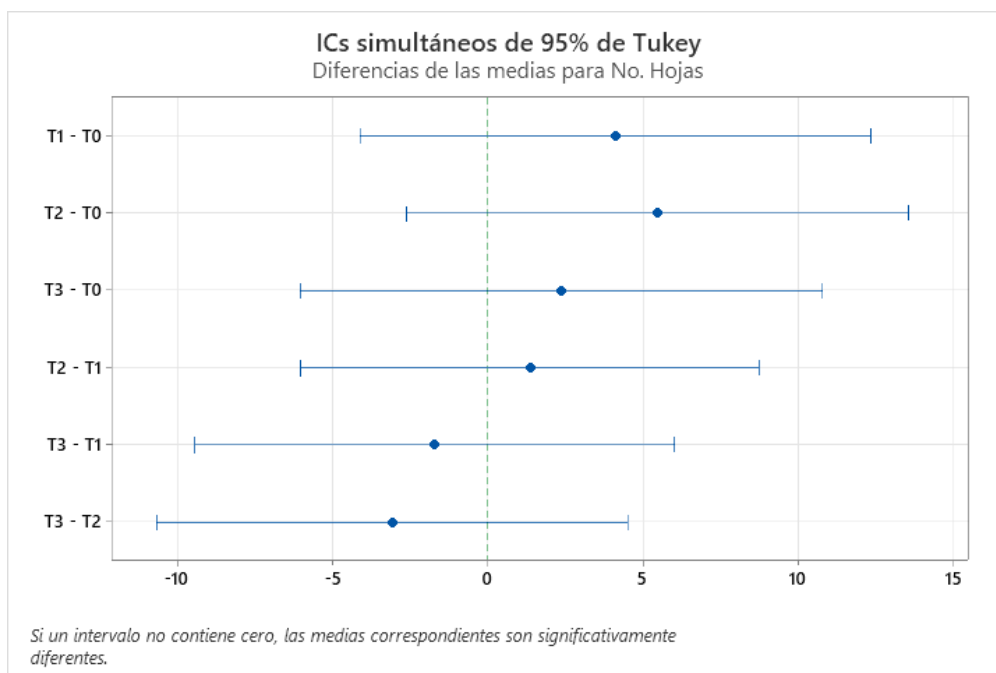
*Desv.Est. agrupada = 6.58617*

##### **Comparaciones en parejas de Tukey**

**Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%**

| Tratamiento |    |                  |
|-------------|----|------------------|
| BAP ml-1    | N  | Media Agrupación |
| T2          | 12 | 17.08 A          |
| T1          | 11 | 15.73 A          |
| T3          | 10 | 14.00 A          |
| T0          | 8  | 11.63 A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### **CYMBIDIUM BAP**

#### **ANOVA de un solo factor: No. Brotes vs. Tratamiento BAP ml-1**

#### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### **Información del factor**

| Factor               | Niveles | Valores        |
|----------------------|---------|----------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 4       | T0, T1, T2, T3 |

#### **Análisis de Varianza**

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-----------|-----------|---------|---------|
|--------|----|-----------|-----------|---------|---------|

|             |    |        |        |      |       |
|-------------|----|--------|--------|------|-------|
| Tratamiento | 3  | 47.49  | 15.829 | 1.64 | 0.197 |
| BAP ml-1    |    |        |        |      |       |
| Error       | 37 | 357.49 | 9.662  |      |       |
| Total       | 40 | 404.98 |        |      |       |

### Resumen del modelo

|  | R-<br>S cuadrado | R- cuadrado<br>cuadrado(ajustado) | R-<br>cuadrado<br>(pred) |
|--|------------------|-----------------------------------|--------------------------|
|  | 3.10835          | 11.73%                            | 4.57%                    |
|  |                  |                                   | 0.00%                    |

### Medias

| Tratamiento | N  | Media | Desv.Est. | IC de<br>95%      |
|-------------|----|-------|-----------|-------------------|
| BAP ml-1    |    |       |           |                   |
| T0          | 8  | 3.125 | 1.246     | (0.898,<br>5.352) |
| T1          | 11 | 4.636 | 2.730     | (2.737,<br>6.535) |
| T2          | 12 | 6.17  | 4.09      | (4.35,<br>7.98)   |
| T3          | 10 | 5.400 | 3.134     | (3.408,<br>7.392) |

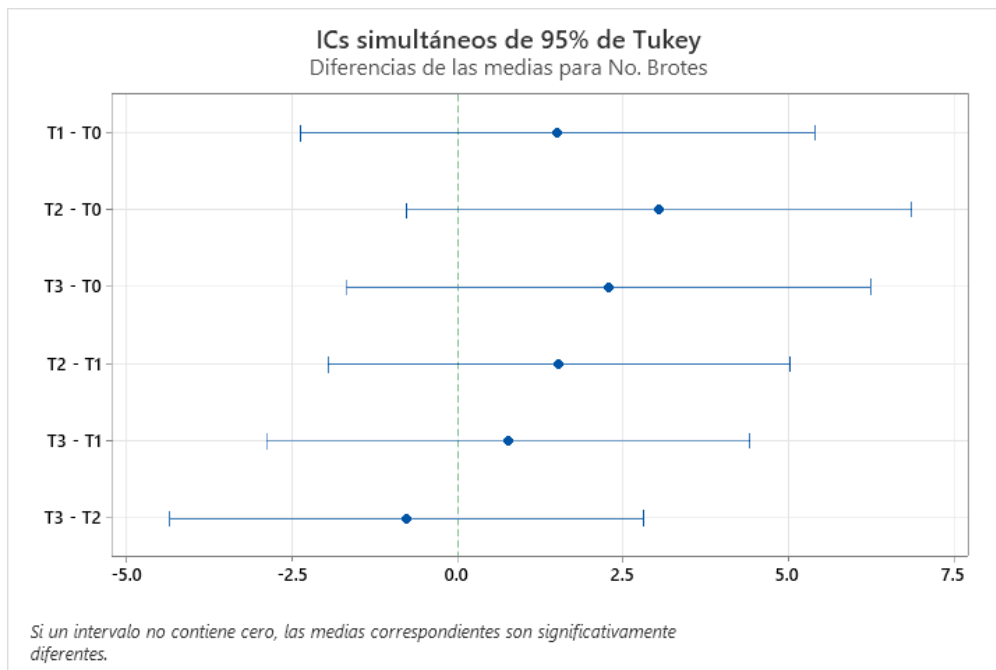
*Desv.Est. agrupada = 3.10835*

### Comparaciones en parejas de Tukey

#### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tratamiento | N  | Media | Agrupación |
|-------------|----|-------|------------|
| BAP ml-1    |    |       |            |
| T2          | 12 | 6.17  | A          |
| T3          | 10 | 5.400 | A          |
| T1          | 11 | 4.636 | A          |
| T0          | 8  | 3.125 | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## **CYMBIDIUM BAP**

### **ANOVA de un solo factor: Longitud vs. Tratamiento BAP ml-1**

#### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### **Información del factor**

| <b>Factor</b>        | <b>Niveles Valores</b> |
|----------------------|------------------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 4 T0, T1, T2, T3       |

#### **Análisis de Varianza**

| <b>Fuente</b>        | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|----------------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 3         | 16.58            | 5.526            | 0.85           | 0.475          |
| Error                | 37        | 240.17           | 6.491            |                |                |
| Total                | 40        | 256.74           |                  |                |                |

#### **Resumen del modelo**

| <b>R-<br/>S cuadrado</b> | <b>R-<br/>cuadrado<br/>(ajustado)</b> | <b>R-<br/>cuadrado<br/>(pred)</b> |
|--------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 2.54774                  | 6.46%                                 | 0.00%                             |

## Medias

| Tratamiento | BAP ml-1 | N  | Media | Desv.Est. | IC de 95%      |
|-------------|----------|----|-------|-----------|----------------|
| T0          |          | 8  | 6.750 | 2.188     | (4.925, 8.575) |
| T1          |          | 11 | 5.000 | 2.569     | (3.444, 6.556) |
| T2          |          | 12 | 5.167 | 2.453     | (3.676, 6.657) |
| T3          |          | 10 | 5.500 | 2.877     | (3.868, 7.132) |

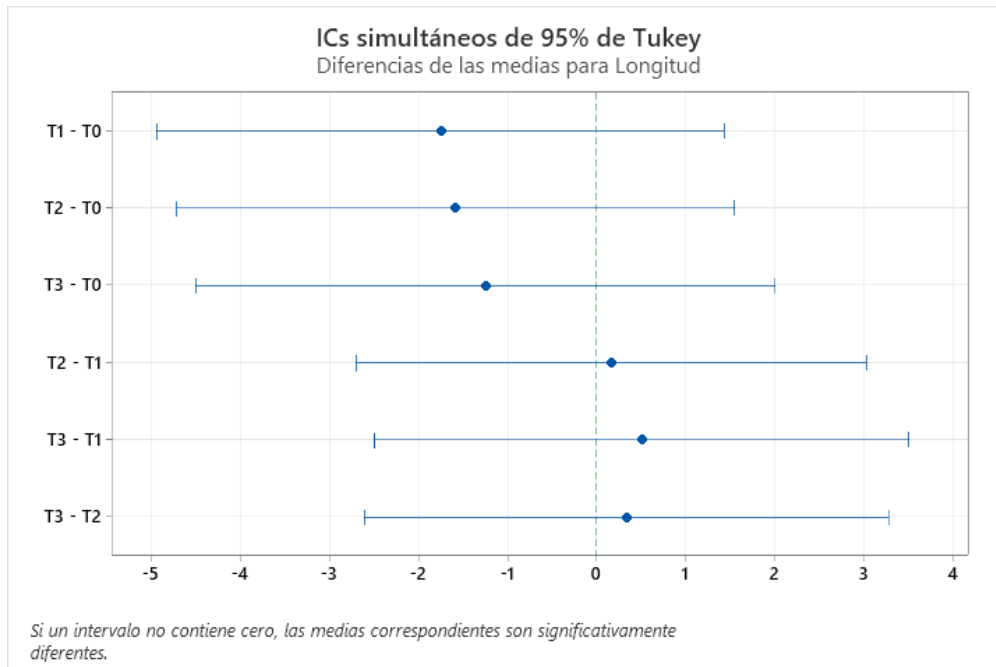
*Desv.Est. agrupada = 2.54774*

## Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tratamiento | BAP ml-1 | N  | Media | Agrupación |
|-------------|----------|----|-------|------------|
| T0          |          | 8  | 6.750 | A          |
| T3          |          | 10 | 5.500 | A          |
| T2          |          | 12 | 5.167 | A          |
| T1          |          | 11 | 5.000 | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## ANEXO 2. Análisis de ANOVA y prueba de TUKEY de *Dendrobium* en BAP

### **DENDROBIUM BAP**

#### **ANOVA de un solo factor: No. Hojas vs. Tratamiento BAP ml-1**

#### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### **Información del factor**

| <b>Factor</b>        | <b>Niveles</b> | <b>Valores</b> |
|----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 4              | T0, T1, T2, T3 |

#### **Análisis de Varianza**

| <b>Fuente</b>        | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|----------------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 3         | 1278             | 426.1            | 0.18           | 0.908          |
| Error                | 29        | 68012            | 2345.2           |                |                |
| Total                | 32        | 69290            |                  |                |                |

#### **Resumen del modelo**

|  | <b>R-<br/>S cuadrado</b> | <b>R-<br/>cuadrado<br/>(ajustado)</b> | <b>R-<br/>cuadrado<br/>(pred)</b> |
|--|--------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
|  | 48.4276                  | 1.85%                                 | 0.00%                             |

#### **Medias**

| <b>Tratamiento BAP ml-1</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>IC de 95%</b> |
|-----------------------------|----------|--------------|------------------|------------------|
| T0                          | 8        | 31.5         | 39.2             | (-3.5, 66.5)     |
| T1                          | 9        | 44.9         | 60.5             | (11.9, 77.9)     |
| T2                          | 9        | 43.3         | 58.6             | (10.3, 76.3)     |
| T3                          | 7        | 31.86        | 9.39             | (-5.58, 69.29)   |

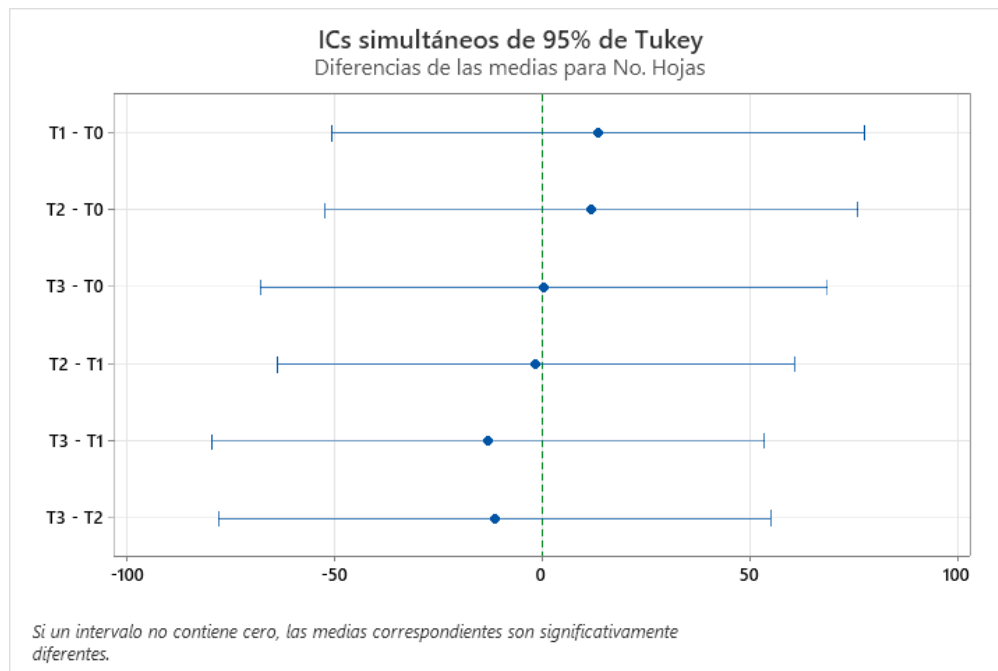
*Desv.Est. agrupada = 48.4276*

#### **Comparaciones en parejas de Tukey**

**Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%**

| Tratamiento | N | Mediana | Agrupación |
|-------------|---|---------|------------|
| T1          | 9 | 44.9    | A          |
| T2          | 9 | 43.3    | A          |
| T3          | 7 | 31.86   | A          |
| T0          | 8 | 31.5    | A          |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



### **DENDROBIUM BAP**

**ANOVA de un solo factor: No. Brotes vs. Tratamiento BAP ml-1**

#### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

#### **Información del factor**

| Factor      | Niveles | Valores        |
|-------------|---------|----------------|
| Tratamiento | 4       | T0, T1, T2, T3 |

#### **Análisis de Varianza**

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-----------|-----------|---------|---------|
|--------|----|-----------|-----------|---------|---------|

|             |    |         |        |      |       |
|-------------|----|---------|--------|------|-------|
| Tratamiento | 3  | 98.25   | 32.75  | 0.21 | 0.887 |
| BAP ml-1    |    |         |        |      |       |
| Error       | 29 | 4465.75 | 153.99 |      |       |
| Total       | 32 | 4564.00 |        |      |       |

### Resumen del modelo

|  | R-<br>S cuadrado | R-<br>cuadrado<br>ajustado | R-<br>cuadrado<br>(pred) |
|--|------------------|----------------------------|--------------------------|
|  | 12.4093          | 2.15%                      | 0.00%                    |

### Medias

| Tratamiento<br>BAP ml-1 | N | Media | Desv.Est. | IC de<br>95%      |
|-------------------------|---|-------|-----------|-------------------|
| T0                      | 8 | 7.50  | 9.29      | (-1.47,<br>16.47) |
| T1                      | 9 | 10.89 | 14.60     | (2.43,<br>19.35)  |
| T2                      | 9 | 12.00 | 16.16     | (3.54,<br>20.46)  |
| T3                      | 7 | 9.14  | 3.34      | (-0.45,<br>18.74) |

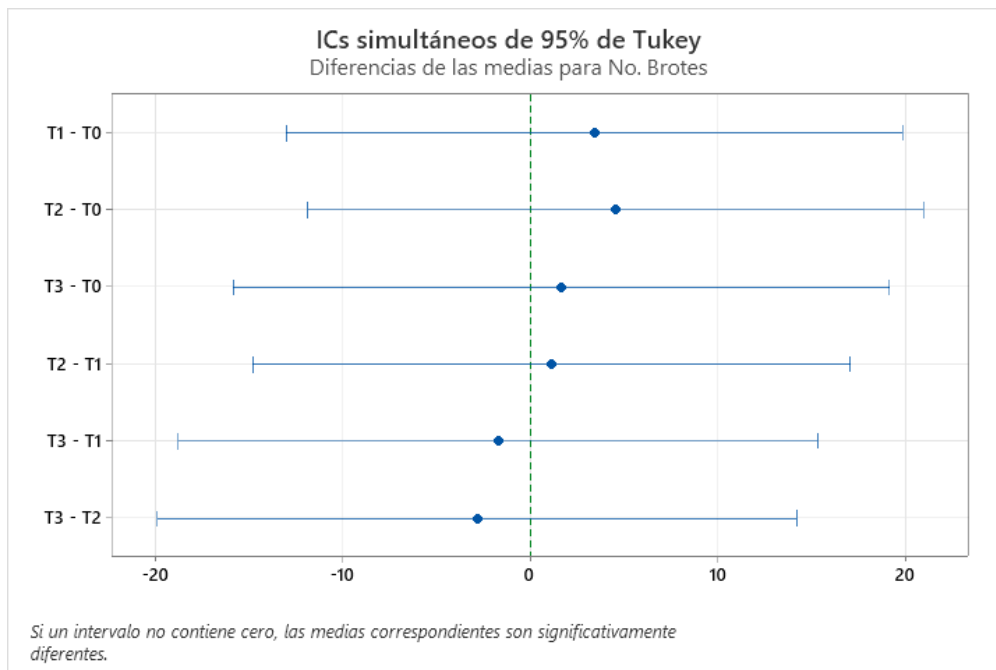
*Desv.Est. agrupada = 12.4093*

### Comparaciones en parejas de Tukey

#### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tratamiento<br>BAP ml-1 | N | Media | Agrupación |
|-------------------------|---|-------|------------|
| T2                      | 9 | 12.00 | A          |
| T1                      | 9 | 10.89 | A          |
| T3                      | 7 | 9.14  | A          |
| T0                      | 8 | 7.50  | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### ***DENDROBIUM BAP***

#### **ANOVA de un solo factor: Longitud vs. Tratamiento BAP ml-1**

#### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### **Información del factor**

| <b>Factor</b>        | <b>Niveles Valores</b> |
|----------------------|------------------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 4 T0, T1, T2, T3       |

#### **Análisis de Varianza**

| <b>Fuente</b>        | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|----------------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento BAP ml-1 | 3         | 125.7            | 41.91            | 0.47           | 0.707          |
| Error                | 29        | 2598.7           | 89.61            |                |                |
| Total                | 32        | 2724.5           |                  |                |                |

#### **Resumen del modelo**

| <b>R- S cuadrado</b> | <b>R- cuadrado(ajustado)</b> | <b>R- cuadrado (pred)</b> |
|----------------------|------------------------------|---------------------------|
| 9.46636              | 4.61%                        | 0.00%                     |

## Medias

| Tratamiento | N | Mediana | Desv.Est. | IC de 95%        |
|-------------|---|---------|-----------|------------------|
| T0          | 8 | 6.50    | 8.01      | (-0.35, 13.35)   |
| T1          | 9 | 7.33    | 9.79      | (0.88, 13.79)    |
| T2          | 9 | 9.89    | 13.08     | (3.44, 16.34)    |
| T3          | 7 | 4.357   | 1.600     | (-2.961, 11.675) |

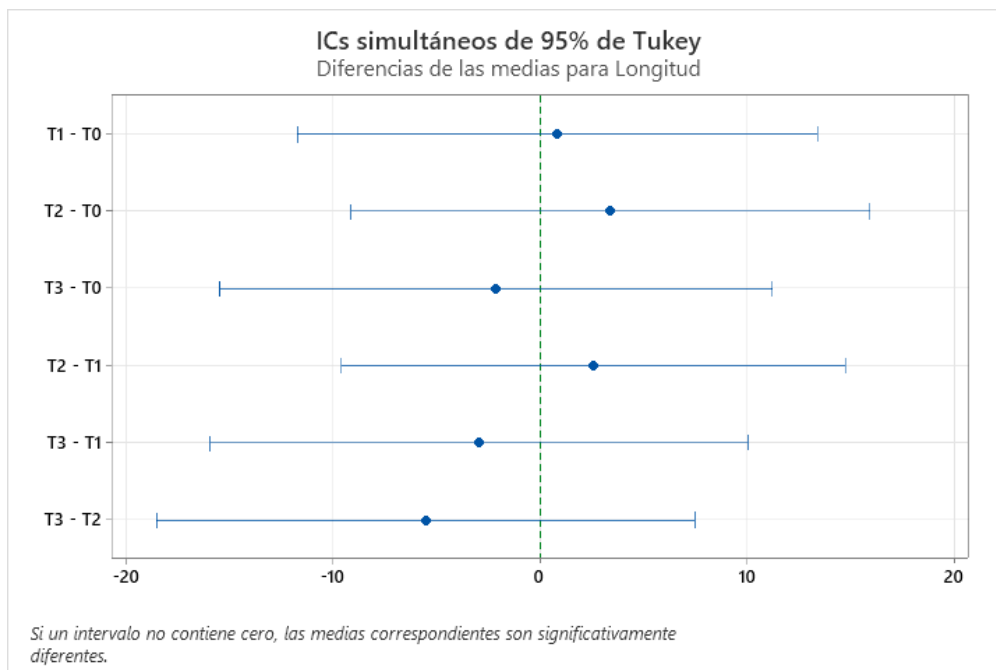
*Desv.Est. agrupada = 9.46636*

## Comparaciones en parejas de Tukey

**Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%**

| Tratamiento | N | Mediana | Agrupación |
|-------------|---|---------|------------|
| T2          | 9 | 9.89    | A          |
| T1          | 9 | 7.33    | A          |
| T0          | 8 | 6.50    | A          |
| T3          | 7 | 4.357   | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### ANEXO 3. Análisis de ANOVA y prueba de TUKEY de *Cymbidium* de AIB.

#### CYMBIDIUM

ANOVA de un solo factor: ALTURA EN CM. vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l

#### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| Factor                    | Niveles Valores  |
|---------------------------|------------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4 T0, T1, T2, T3 |

#### Análisis de Varianza

| Fuente                    | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3   | 52.42     | 17.47     | 0.91    | 0.449   |
| Error                     | 32  | 616.46    | 19.26     |         |         |
| Total                     | 35  | 668.88    |           |         |         |

#### Resumen del modelo

| S       | R-cuad. | R-cuad. (ajustado) | R-cuad. (pred) |
|---------|---------|--------------------|----------------|
| 4.38912 | 7.84%   | 0.00%              | 0.00%          |

#### Medias

| CONCENTRACION DE AIB mg/l | N | Media  | Desv.Est. | IC de 95%       |
|---------------------------|---|--------|-----------|-----------------|
| T0                        | 9 | 11.467 | 1.412     | (8.487, 14.447) |
| T1                        | 9 | 12.50  | 5.09      | (9.52, 15.48)   |
| T2                        | 9 | 9.17   | 5.52      | (6.19, 12.15)   |
| T3                        | 9 | 11.00  | 4.32      | (8.02, 13.98)   |

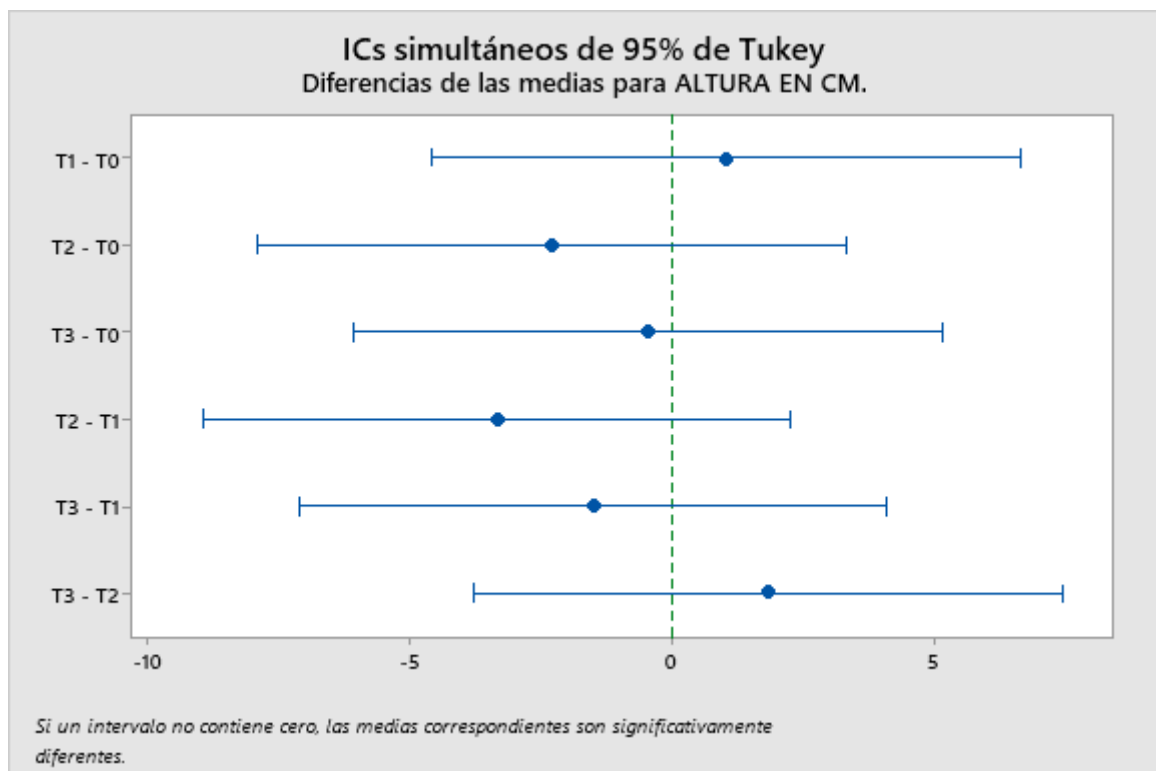
*Desv.Est. agrupada = 4.38912*

## Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| CONCENTRACION DE AIB mg/l | N | Media  | n | Agrupación |
|---------------------------|---|--------|---|------------|
| T1                        | 9 | 12.50  | A |            |
| T0                        | 9 | 11.467 | A |            |
| T3                        | 9 | 11.00  | A |            |
| T2                        | 9 | 9.17   | A |            |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



## ANOVA de un solo factor: NO. DE RAICES vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l

### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

### Información del factor

| Factor                    | Niveles | Valores        |
|---------------------------|---------|----------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4       | T0, T1, T2, T3 |

#### Análisis de Varianza

| Fuente                    | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3      | 27.56        | 9.185        | 0.56       | 0.647      |
| Error                     | 32     | 527.33       | 16.479       |            |            |
| Total                     | 35     | 554.89       |              |            |            |

#### Resumen del modelo

| S           | R-cuad.<br>cuad. | R- (ajustado<br>) | R-<br>cuad.<br>(pred) |
|-------------|------------------|-------------------|-----------------------|
| 4.0594<br>5 | 4.97%            | 0.00%             | 0.00%                 |

#### Medias

| CONCENTRACION DE AIB mg/l | N | Media | Desv.Est. | IC de 95%      |
|---------------------------|---|-------|-----------|----------------|
| T0                        | 9 | 6.78  | 3.93      | (4.02, 9.53)   |
| T1                        | 9 | 7.89  | 4.91      | (5.13, 10.65)  |
| T2                        | 9 | 5.889 | 2.472     | (3.133, 8.645) |
| T3                        | 9 | 5.67  | 4.50      | (2.91, 8.42)   |

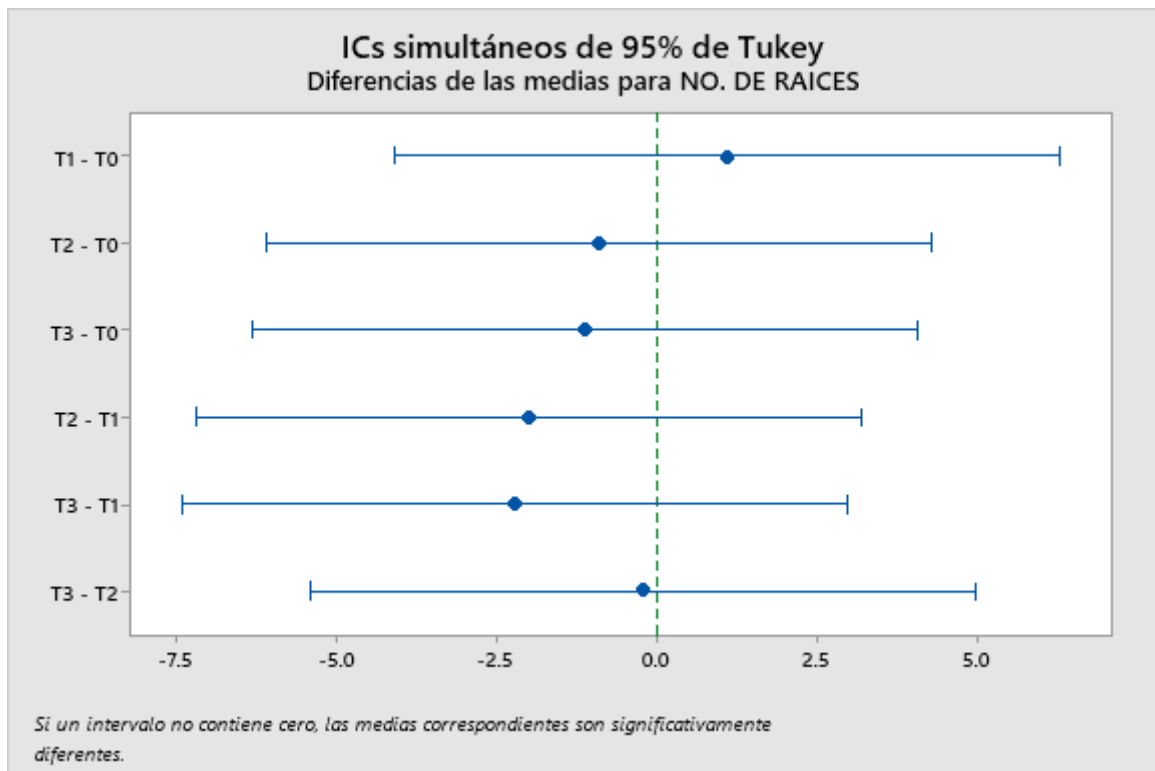
*Desv.Est. agrupada = 4.05945*

#### Comparaciones en parejas de Tukey

#### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| CONCENTRACION DE AIB mg/l | N | Media | Agrupación |
|---------------------------|---|-------|------------|
| T1                        | 9 | 7.89  | A          |
| T0                        | 9 | 6.78  | A          |
| T2                        | 9 | 5.889 | A          |
| T3                        | 9 | 5.67  | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### ANOVA de un solo factor: NO. DE HOJAS vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l

#### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| Factor                    | Niveles Valores  |
|---------------------------|------------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4 T0, T1, T2, T3 |

#### Análisis de Varianza

| Fuente                    | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3      | 254.6        | 84.85        | 1.82       | 0.163      |
| Error                     | 32     | 1488.7       | 46.52        |            |            |
| Total                     | 35     | 1743.2       |              |            |            |

#### Resumen del modelo

| S           | R-cuad.<br>R- (ajustado<br>) | R-cuad.<br>(pred) |
|-------------|------------------------------|-------------------|
| 6.8206<br>2 | 14.60%                       | 6.60%             |
|             |                              | 0.00%             |

## Medias

| CONCENTRACION<br>DE AIB mg/l | N | Media | Desv.Est | IC de 95%       |
|------------------------------|---|-------|----------|-----------------|
| T0                           | 9 | 10.11 | 4.08     | (5.48, 14.74)   |
| T1                           | 9 | 13.22 | 11.76    | (8.59, 17.85)   |
| T2                           | 9 | 6.333 | 2.398    | (1.702, 10.964) |
| T3                           | 9 | 7.44  | 5.05     | (2.81, 12.08)   |

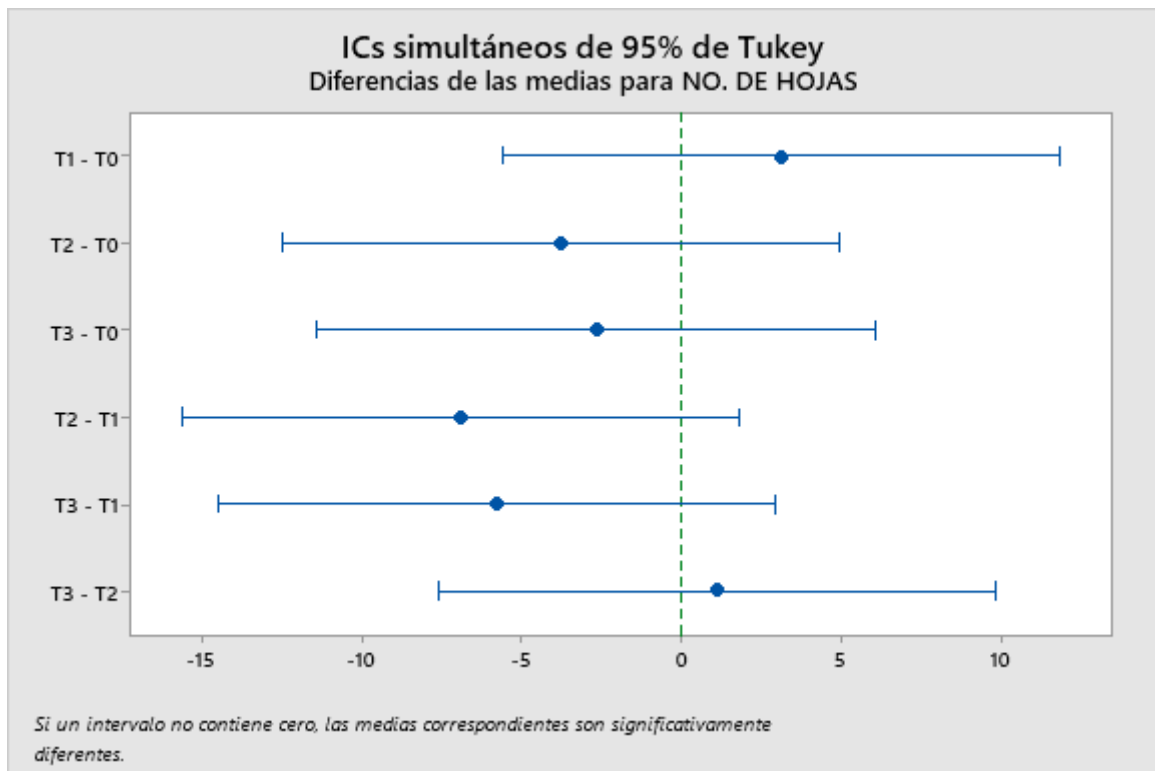
*Desv.Est. agrupada = 6.82062*

## Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| CONCENTRACION<br>DE AIB mg/l | N | Media | Agrupación |
|------------------------------|---|-------|------------|
| T1                           | 9 | 13.22 | A          |
| T0                           | 9 | 10.11 | A          |
| T3                           | 9 | 7.44  | A          |
| T2                           | 9 | 6.333 | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### ANOVA de un solo factor: NO. DE BROTES vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l

#### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| Factor                    | Niveles Valores  |
|---------------------------|------------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4 T0, T1, T2, T3 |

#### Análisis de Varianza

| Fuente                    | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3   | 16.97     | 5.657     | 3.77    | 0.020   |
| Error                     | 32  | 48.00     | 1.500     |         |         |
| Total                     | 35  | 64.97     |           |         |         |

#### Resumen del modelo

| S           | R-cuad.<br>R- (ajustado<br>cuad. ) | R-<br>cuad.<br>(pred) |
|-------------|------------------------------------|-----------------------|
| 1.2247<br>4 | 26.12%                             | 19.20%<br>6.50%       |

### Medias

| CONCENTRACION |         | Desv.Est |                |  |
|---------------|---------|----------|----------------|--|
| DE AIB mg/l   | N Media |          | . IC de 95%    |  |
| T0            | 9 2.444 | 1.014    | (1.613, 3.276) |  |
| T1            | 9 3.556 | 1.509    | (2.724, 4.387) |  |
| T2            | 9 1.667 | 0.707    | (0.835, 2.498) |  |
| T3            | 9 2.222 | 1.481    | (1.391, 3.054) |  |

*Desv.Est. agrupada = 1.22474*

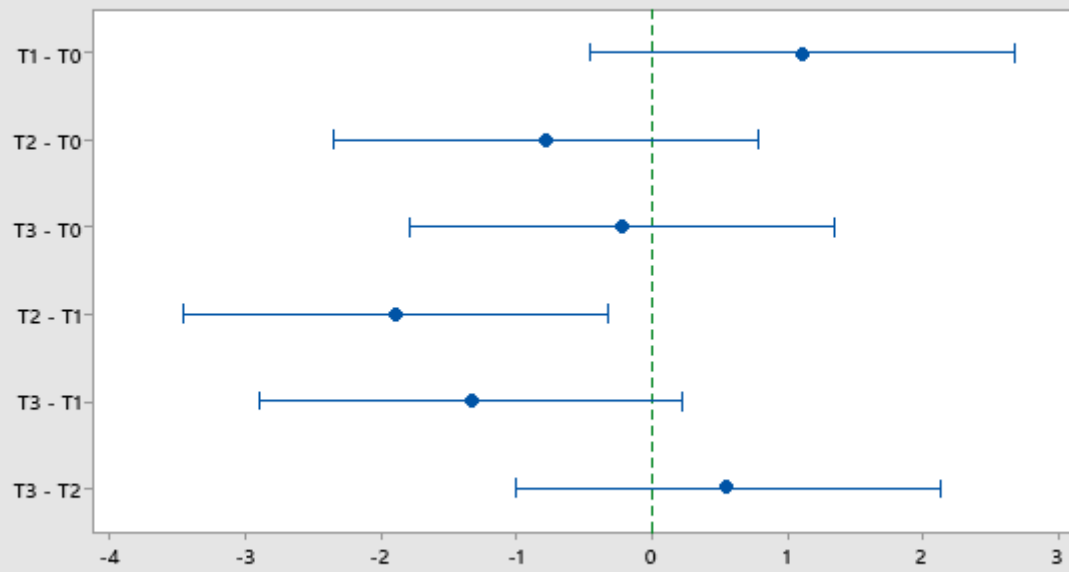
### Comparaciones en parejas de Tukey

**Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%**

| CONCENTRACION |         | Agrupación |   |
|---------------|---------|------------|---|
| DE AIB mg/l   | N Media |            |   |
| T1            | 9 3.556 | A          |   |
| T0            | 9 2.444 | A          | B |
| T3            | 9 2.222 | A          | B |
| T2            | 9 1.667 |            | B |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**ICs simultáneos de 95% de Tukey**  
Diferencias de las medias para NO. DE BROTES



*Si un intervalo no contiene cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.*

#### ANEXO 4. Análisis de ANOVA y prueba de TUKEY de *Dendrobium* de AIB.

##### **DENDROBIUM**

**ANOVA de un solo factor: ALTURA EN CM. vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l**

##### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

##### **Información del factor**

| Factor                    | Niveles | Valores        |
|---------------------------|---------|----------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4       | T0, T1, T2, T3 |

##### **Análisis de Varianza**

| Fuente                    | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3      | 543.7        | 181.24       | 7.42       | 0.002      |
| Error                     | 20     | 488.7        | 24.44        |            |            |
| Total                     | 23     | 1032.5       |              |            |            |

##### **Resumen del modelo**

| S           | R-cuad.<br>R- (ajustado)<br>cuad. | R-<br>cuad.<br>(pred) |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------|
| 4.9434<br>3 | 52.66%                            | 45.56% 31.83%         |

##### **Medias**

| CONCENTRACION DE AIB mg/l | N | Media | Desv.Est. | IC de 95%      |
|---------------------------|---|-------|-----------|----------------|
| T0                        | 6 | 18.75 | 2.96      | (14.54, 22.96) |
| T1                        | 6 | 7.17  | 8.27      | (2.96, 11.38)  |
| T2                        | 6 | 7.08  | 2.97      | (2.87, 11.29)  |
| T3                        | 6 | 11.83 | 3.43      | (7.62, 16.04)  |

*Desv.Est. agrupada = 4.94343*

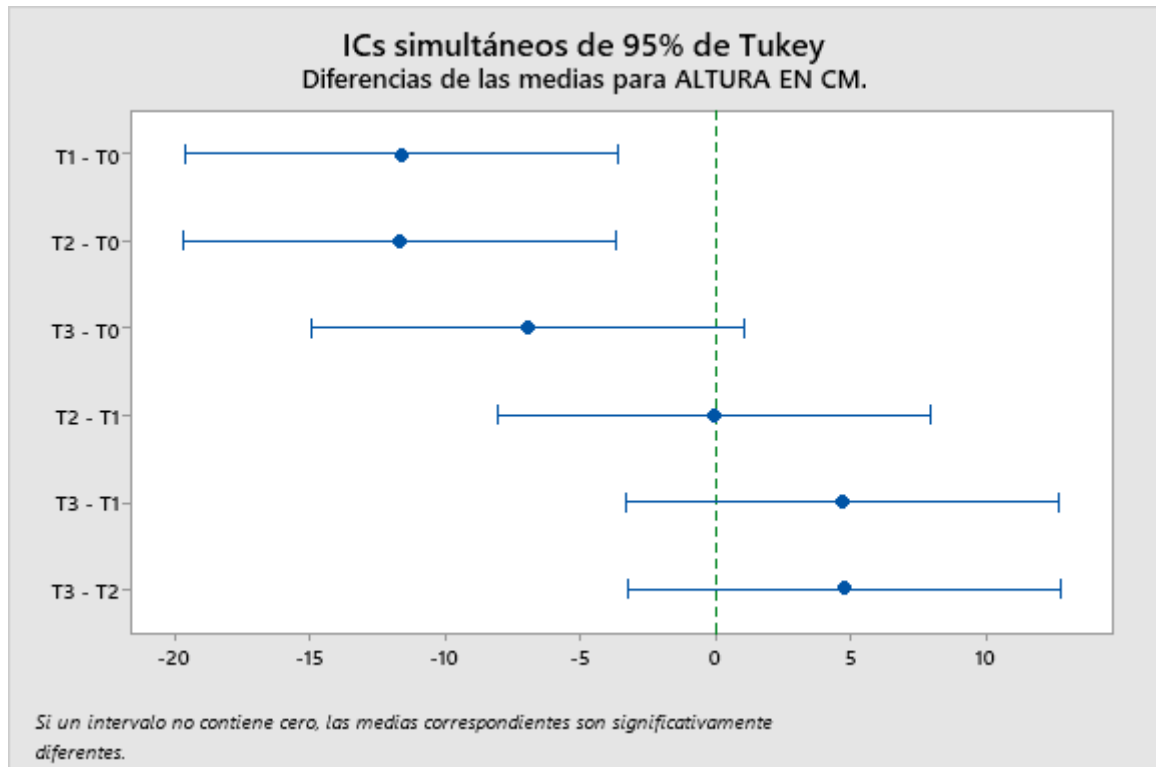
##### **Comparaciones en parejas de Tukey**

## Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

### CONCENTRACION DE AIB mg/l

| DE AIB mg/l | N | Media | Agrupación |
|-------------|---|-------|------------|
| T0          | 6 | 18.75 | A          |
| T3          | 6 | 11.83 | B          |
| T1          | 6 | 7.17  | B          |
| T2          | 6 | 7.08  | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## ANOVA de un solo factor: NO. DE RAICES vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l

### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

### Información del factor

| Factor                    | Niveles | Valores        |
|---------------------------|---------|----------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4       | T0, T1, T2, T3 |

## Análisis de Varianza

| Fuente                    | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3      | 571.5        | 190.5        | 0.95       | 0.436      |
| Error                     | 20     | 4018.5       | 200.9        |            |            |
| Total                     | 23     | 4590.0       |              |            |            |

## Resumen del modelo

| S      | R-cuad.<br>R-<br>cuad. (ajustado) | R-cuad.<br>(pred) |
|--------|-----------------------------------|-------------------|
| 14.174 | 12.45%                            | 0.00%             |
| 8      |                                   |                   |

## Medias

| CONCENTRACION DE AIB mg/l | N | Media | Desv.Est. | IC de 95%        |
|---------------------------|---|-------|-----------|------------------|
| T0                        | 6 | 7.167 | 1.941     | (-4.904, 19.238) |
| T1                        | 6 | 18.33 | 24.34     | (6.26, 30.40)    |
| T2                        | 6 | 16.83 | 8.30      | (4.76, 28.90)    |
| T3                        | 6 | 19.50 | 11.78     | (7.43, 31.57)    |

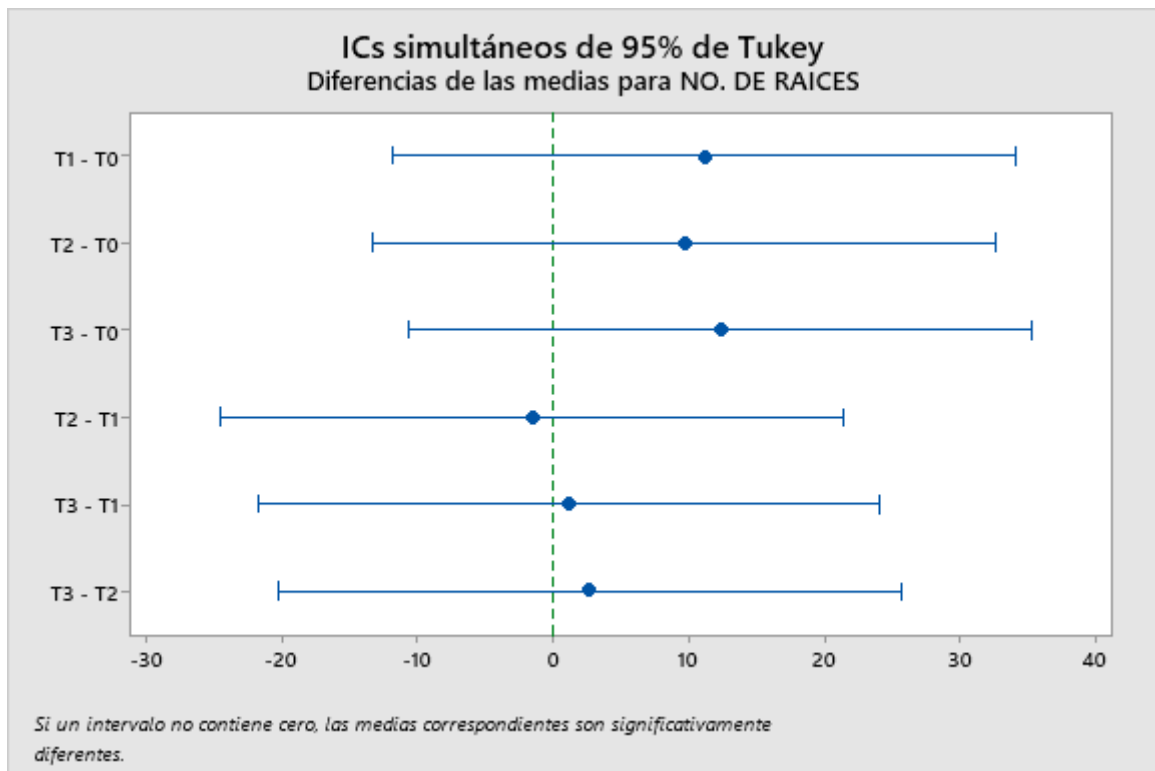
*Desv.Est. agrupada = 14.1748*

## Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| CONCENTRACION DE AIB mg/l | N | Media | Agrupación |
|---------------------------|---|-------|------------|
| T3                        | 6 | 19.50 | A          |
| T1                        | 6 | 18.33 | A          |
| T2                        | 6 | 16.83 | A          |
| T0                        | 6 | 7.167 | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### ANOVA de un solo factor: NO. DE HOJAS vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l

#### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| Factor                    | Niveles | Valores        |
|---------------------------|---------|----------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4       | T0, T1, T2, T3 |

#### Análisis de Varianza

| Fuente                    | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3   | 1110.0    | 370.00    | 13.21   | 0.000   |
| Error                     | 20  | 560.0     | 28.00     |         |         |
| Total                     | 23  | 1670.0    |           |         |         |

#### Resumen del modelo

| S       | R-cuad. | R- (ajustado) | R-cuad. (pred) |
|---------|---------|---------------|----------------|
| 5.29150 | 66.47%  | 61.44%        | 51.71%         |

### Medias

| CONCENTRACION DE AIB mg/l |  | N | Media | Desv.Est | IC de 95%      |
|---------------------------|--|---|-------|----------|----------------|
| T0                        |  | 6 | 7.67  | 5.72     | (3.16, 12.17)  |
| T1                        |  | 6 | 22.00 | 4.20     | (17.49, 26.51) |
| T2                        |  | 6 | 15.67 | 7.55     | (11.16, 20.17) |
| T3                        |  | 6 | 4.667 | 2.160    | (0.160, 9.173) |

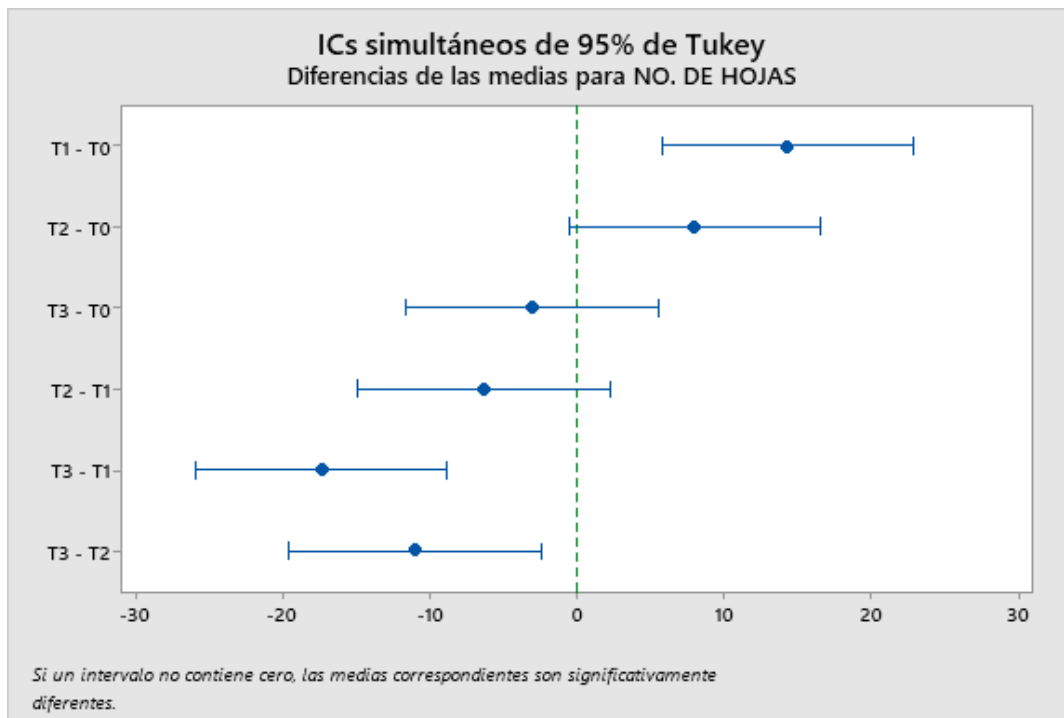
*Desv.Est. agrupada = 5.29150*

### Comparaciones en parejas de Tukey

**Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%**

| CONCENTRACION DE AIB mg/l |  | N | Media | Agrupación |
|---------------------------|--|---|-------|------------|
| T1                        |  | 6 | 22.00 | A          |
| T2                        |  | 6 | 15.67 | A B        |
| T0                        |  | 6 | 7.67  | B C        |
| T3                        |  | 6 | 4.667 | C          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### ANOVA de un solo factor: NO. DE BROTES vs. CONCENTRACION DE AIB mg/l

#### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| Factor                    | Niveles Valores  |
|---------------------------|------------------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 4 T0, T1, T2, T3 |

#### Análisis de Varianza

| Fuente                    | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| CONCENTRACION DE AIB mg/l | 3   | 57.50     | 19.167    | 18.85   | 0.000   |
| Error                     | 20  | 20.33     | 1.017     |         |         |
| Total                     | 23  | 77.83     |           |         |         |

#### Resumen del modelo

| S | R-cuad. (ajustado) | R-cuad. (pred) |
|---|--------------------|----------------|
|---|--------------------|----------------|

1.0083 73.88% 69.96% 62.38%  
0

### Medias

| CONCENTRAC<br>ION |   | Desv.Est |             |                |
|-------------------|---|----------|-------------|----------------|
| DE AIB mg/l       | N | Media    | . IC de 95% |                |
| T0                | 6 | 2.167    | 1.169       | (1.308, 3.025) |
| T1                | 6 | 5.667    | 0.816       | (4.808, 6.525) |
| T2                | 6 | 2.833    | 1.329       | (1.975, 3.692) |
| T3                | 6 | 1.667    | 0.516       | (0.808, 2.525) |

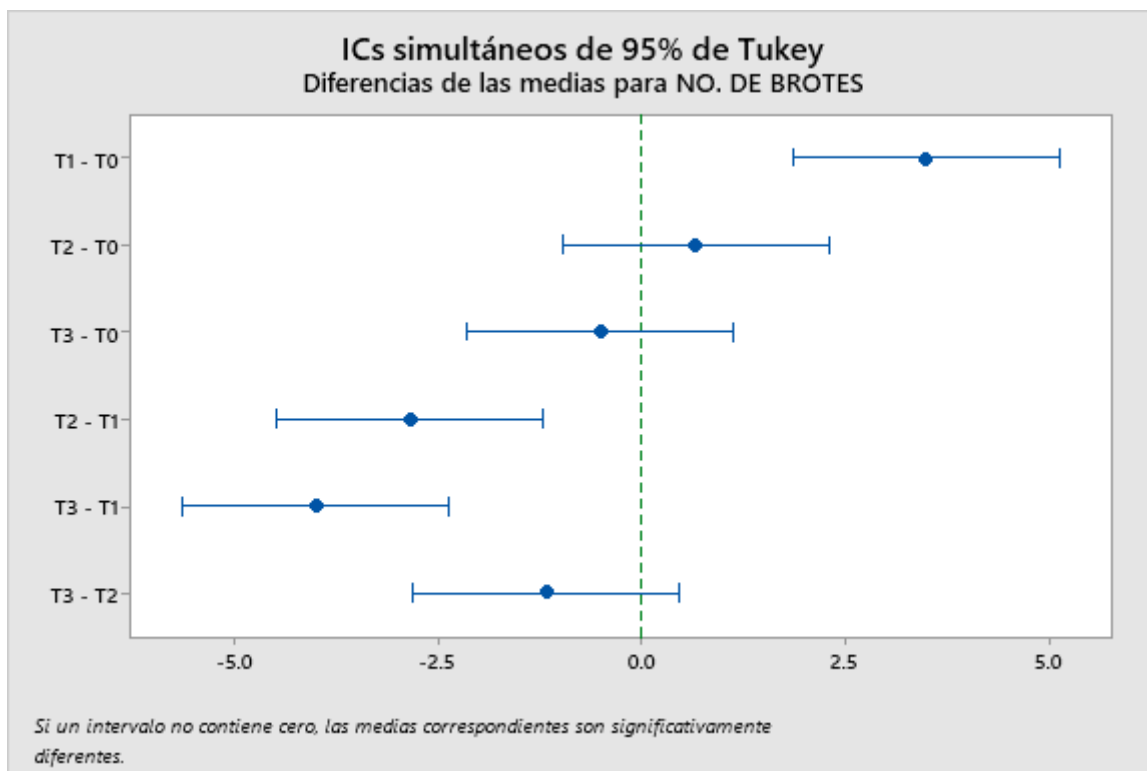
*Desv.Est. agrupada = 1.00830*

### Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| CONCENTRAC<br>ION |   | Desv.Est |            |
|-------------------|---|----------|------------|
| DE AIB mg/l       | N | Media    | Agrupación |
| T1                | 6 | 5.667    | A          |
| T2                | 6 | 2.833    | B          |
| T0                | 6 | 2.167    | B          |
| T3                | 6 | 1.667    | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## ANEXO 5. Análisis de ANOVA y prueba de TUKEY de *Dendrobium* y *Cymbidium* en el sistema de inmersión temporal a 2mg/l de BAP.

### DENDROBIUM

*ANOVA de un solo factor: No. Brotes por explantes vs. Tipo de medio*

#### Método

*Hipótesis nula*      *Todas las medias son iguales*

*Hipótesis alterna*      *No todas las medias son iguales*

*Nivel de significancia*       $\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| <b>Factor</b> | <b>Niveles</b> | <b>Valores</b>      |
|---------------|----------------|---------------------|
| Tipo de medio | 2              | líquido, semisólido |

#### Análisis de Varianza

| <b>Fuente</b> | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Tipo de medio | 1         | 53.39            | 53.39            | 1.27           | 0.276          |
| Error         | 16        | 671.56           | 41.97            |                |                |
| Total         | 17        | 724.94           |                  |                |                |

## Resumen del modelo

|   | <i>S</i> | <i>R-cuad.</i> | <i>R-cuad.</i> |
|---|----------|----------------|----------------|
|   |          | (ajustado)     | (pred)         |
|   | 6.4786   | 7.36%          | 1.57%          |
| 0 |          |                | 0.00%          |

## Medias

| <i>Tipo de medio</i> | <i>N</i> | <i>Media</i> | <i>Desv.Est.</i> | <i>IC de 95%</i> |
|----------------------|----------|--------------|------------------|------------------|
| Líquido              | 9        | 4.22         | 5.09             | (-0.36, 8.80)    |
| semisólido           | 9        | 7.67         | 7.62             | (3.09, 12.24)    |

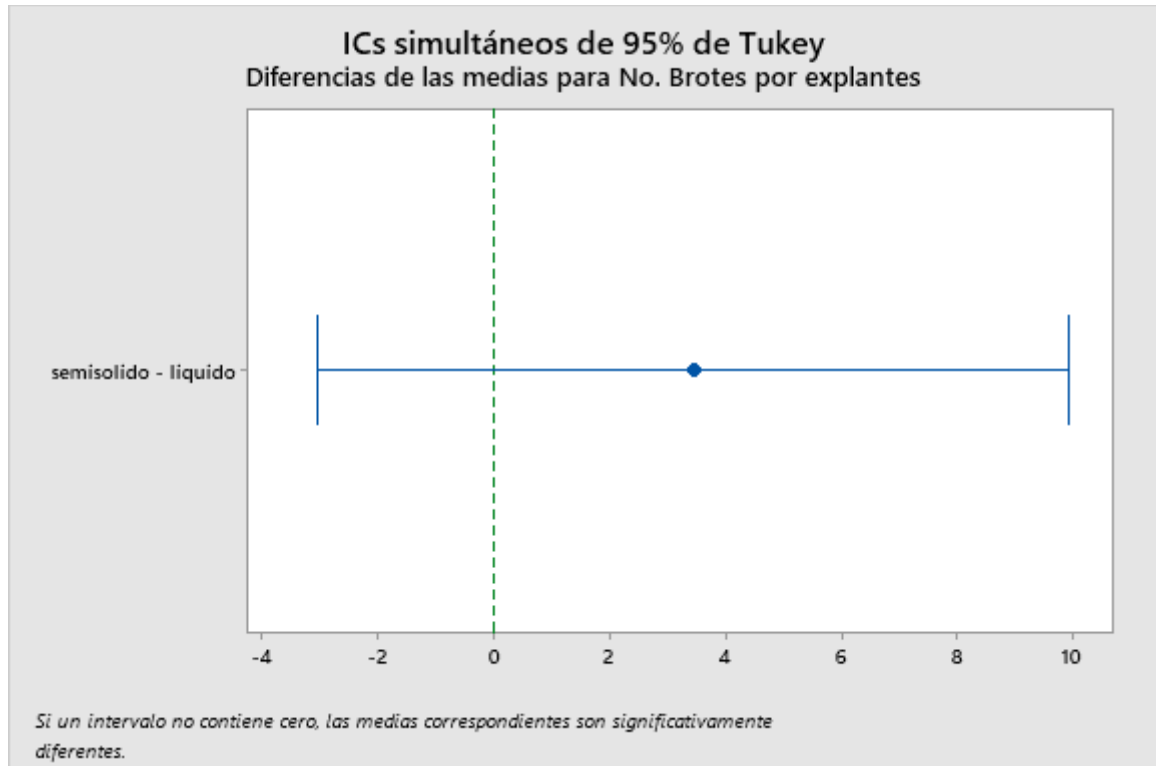
*Desv.Est. agrupada* = 6.47860

## Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| <i>Tipo de medio</i> | <i>N</i> | <i>Media</i> | <i>n</i> |
|----------------------|----------|--------------|----------|
| semisolido           | 9        | 7.67         | A        |
| liquido              | 9        | 4.22         | A        |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



**ANOVA de un solo factor: Longitud de brotes (cm) vs. Tipo de medio**

## Método

Hipótesis nula      Todas las medias son iguales  
 Hipótesis alterna    No todas las medias son iguales  
 Nivel de significancia       $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

### Información del factor

| Factor        | Niveles | Valores             |
|---------------|---------|---------------------|
| Tipo de medio | 2       | líquido, semisólido |

### Análisis de Varianza

| Fuente        | GL | SC     | MC     | Valor |         |
|---------------|----|--------|--------|-------|---------|
|               |    | Ajust. | Ajust. | F     | Valor p |
| Tipo de medio | 1  | 3.556  | 3.556  | 2.67  | 0.122   |
| Error         | 16 | 21.324 | 1.333  |       |         |
| Total         | 17 | 24.880 |        |       |         |

### Resumen del modelo

|        |        | R-cuad.            |                |
|--------|--------|--------------------|----------------|
|        |        | R-cuad. (ajustado) | R-cuad. (pred) |
| 1.1544 | 14.29% | 8.93%              | 0.00%          |
| 6      |        |                    |                |

### Medias

| Tipo de medio | N | Media | Desv.Est. | IC de 95%      |
|---------------|---|-------|-----------|----------------|
| Líquido       | 9 | 4.778 | 0.755     | (3.962, 5.594) |
| semisólido    | 9 | 3.889 | 1.448     | (3.073, 4.705) |

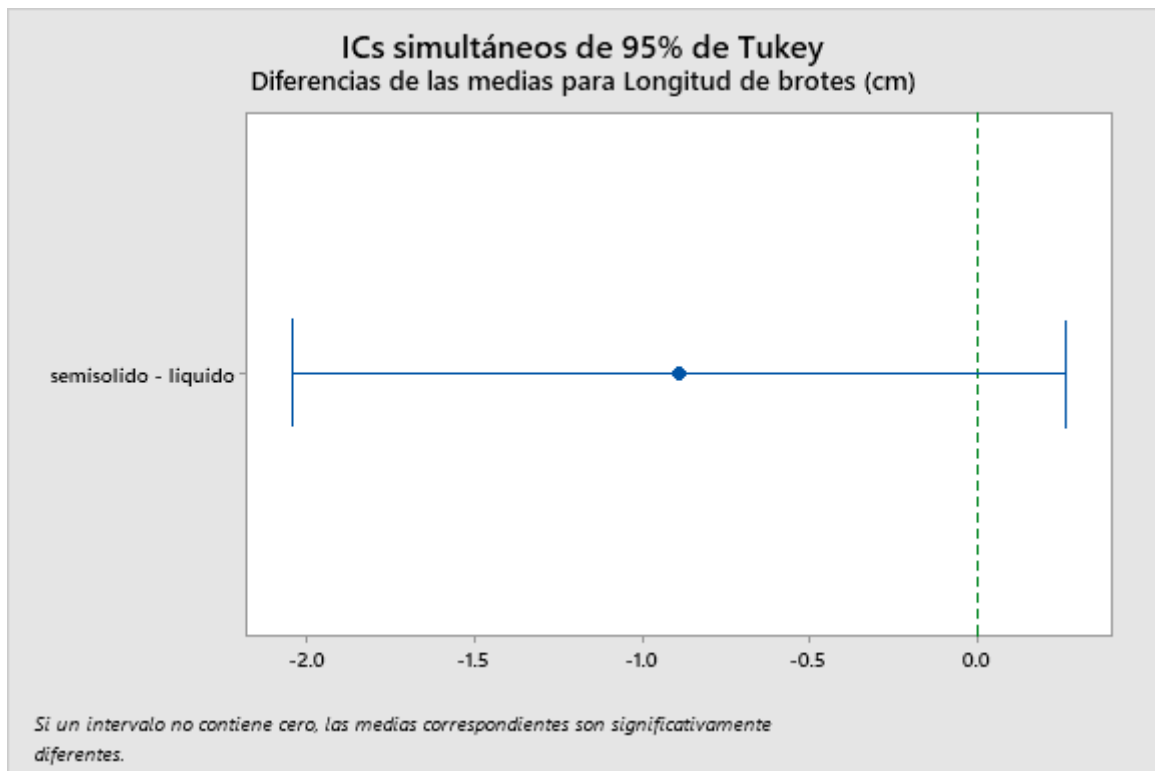
Desv.Est. agrupada = 1.15446

### Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

|               |   | Agrupación |   |
|---------------|---|------------|---|
| Tipo de medio | N | Media      | n |
| líquido       | 9 | 4.778      | A |
| semisólido    | 9 | 3.889      | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



### ***ANOVA de un solo factor: No. De hojas por explante vs. Tipo de medio***

#### ***Método***

Hipótesis nula      Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna      No todas las medias son iguales

Nivel de significancia       $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

#### ***Información del factor***

| <b><i>Factor</i></b> | <b><i>Niveles Valores</i></b> |
|----------------------|-------------------------------|
| Tipo de medio        | 2 líquido, semisólido         |

#### ***Análisis de Varianza***

| <b><i>Fuente</i></b> | <b><i>GL</i></b> | <b><i>SC Ajust.</i></b> | <b><i>MC Ajust.</i></b> | <b><i>Valor F</i></b> | <b><i>Valor p</i></b> |
|----------------------|------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Tipo de medio        | 1                | 2156                    | 2156.1                  | 5.79                  | 0.029                 |
| Error                | 16               | 5960                    | 372.5                   |                       |                       |
| Total                | 17               | 8116                    |                         |                       |                       |

#### ***Resumen del modelo***

| <b><i>S R-cuad. (ajustado)</i></b> | <b><i>R-cuad. (pred)</i></b> |
|------------------------------------|------------------------------|
|------------------------------------|------------------------------|

19.299 26.57% 21.98% 7.06%

5

### Medias

| <i>Tipo de medio</i> | <i>N</i> | <i>Media</i> | <i>Desv.Est.</i> | <i>IC de 95%</i> |
|----------------------|----------|--------------|------------------|------------------|
| Liquido              | 9        | 10.33        | 8.49             | (-3.30, 23.97)   |
| semisolido           | 9        | 32.22        | 25.94            | (18.58, 45.86)   |

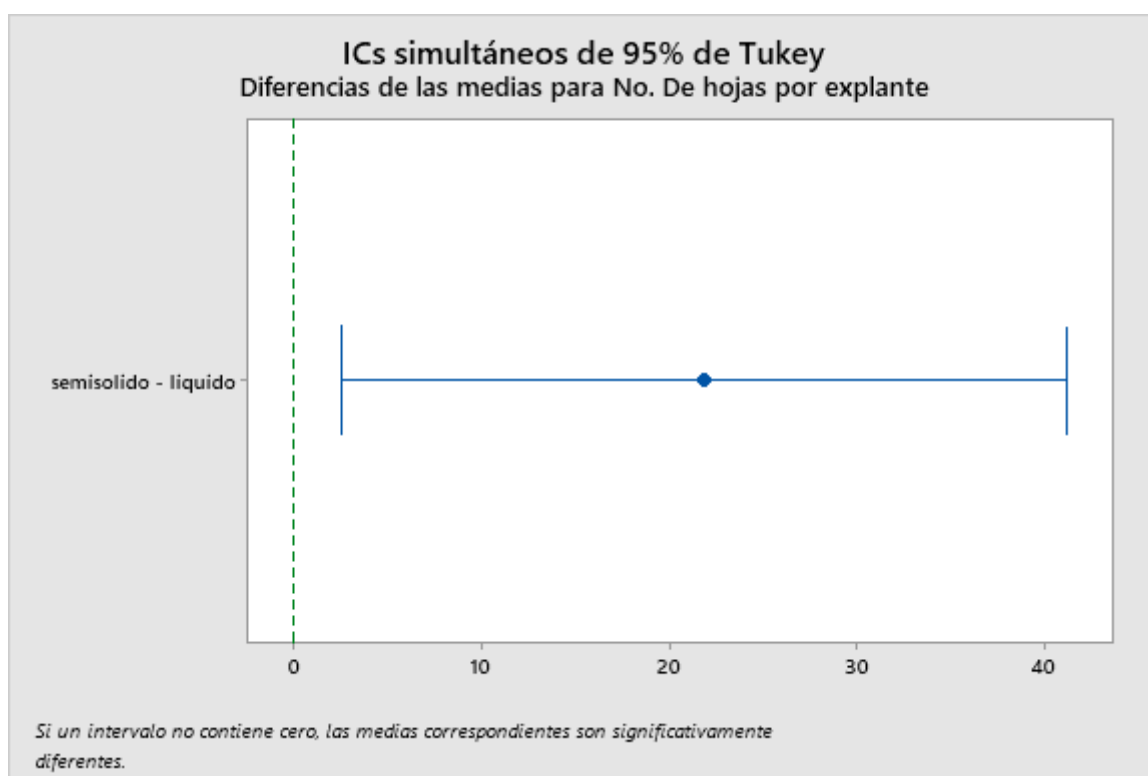
Desv.Est. agrupada = 19.2995

### Comparaciones en parejas de Tukey

*Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%*

| <i>Tipo de medio</i> | <i>N</i> | <i>Media</i> | <i>Agrupación</i> |
|----------------------|----------|--------------|-------------------|
| semisolido           | 9        | 32.22        | A                 |
| liquido              | 9        | 10.33        | B                 |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



**ANOVA de un solo factor: No. De raíces por explante vs. Tipo de medio**

### Método

Hipótesis nula      Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna      No todas las medias son iguales

Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

### Información del factor

| Factor        | Niveles | Valores             |
|---------------|---------|---------------------|
| Tipo de medio | 2       | liquido, semisolido |

### Análisis de Varianza

| Fuente        | GL | SC      | MC     | Valor |         |
|---------------|----|---------|--------|-------|---------|
|               |    | Ajust.  | Ajust. | F     | Valor p |
| Tipo de medio | 1  | 2.000   | 2.000  | 0.06  | 0.807   |
| Error         | 16 | 516.000 | 32.250 |       |         |
| Total         | 17 | 518.000 |        |       |         |

### Resumen del modelo

|        |       | R-cuad.            |                |
|--------|-------|--------------------|----------------|
|        |       | R-cuad. (ajustado) | R-cuad. (pred) |
| 5.6789 | 0.39% | 0.00%              | 0.00%          |
| 1      |       |                    |                |

### Medias

| Tipo de medio | N | Media | Desv.Est. | IC de 95%       |
|---------------|---|-------|-----------|-----------------|
| Liquido       | 9 | 7.000 | 2.550     | (2.987, 11.013) |
| semisolido    | 9 | 7.67  | 7.62      | (3.65, 11.68)   |

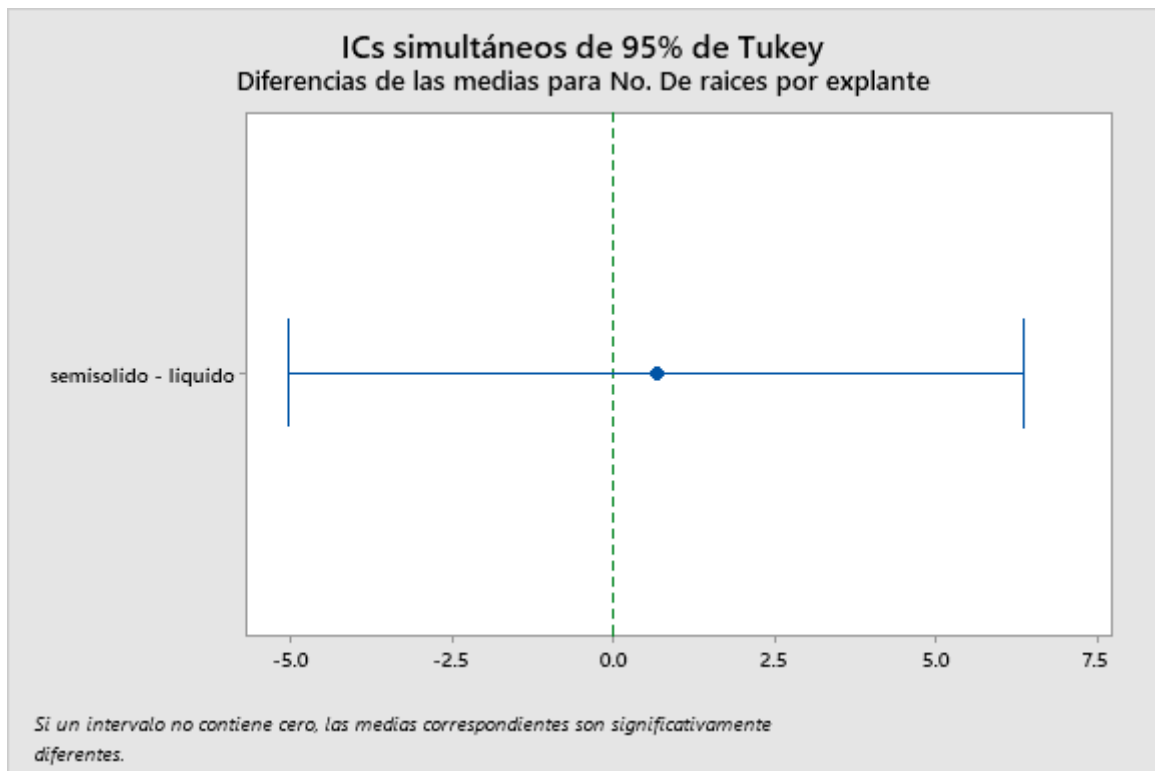
Desv.Est. agrupada = 5.67891

### Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

|               |   | Agrupació |   |
|---------------|---|-----------|---|
| Tipo de medio | N | Media     | n |
| semisolido    | 9 | 7.67      | A |
| liquido       | 9 | 7.000     | A |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



## **CYMBIDIUM**

### **ANOVA de un solo factor: Longitud de brotes (cm) vs. Tipo de medio**

#### **Método**

Hipótesis nula      Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna      No todas las medias son iguales

Nivel de significancia       $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

#### **Información del factor**

| <b>Factor</b> | <b>Niveles</b> | <b>Valores</b>      |
|---------------|----------------|---------------------|
| Tipo de medio | 2              | liquido, semisolido |

#### **Análisis de Varianza**

| <b>Fuente</b> | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Tipo de medio | 1         | 85.33            | 85.333           | 11.39          | 0.007          |
| Error         | 10        | 74.92            | 7.492            |                |                |
| Total         | 11        | 160.25           |                  |                |                |

#### **Resumen del modelo**

| <b>R-cuad.</b>            | <b>R-cuad. S</b>      |
|---------------------------|-----------------------|
| <b>R-cuad. (ajustado)</b> | <b>R-cuad. (pred)</b> |

2.7370 53.25% 48.58% 32.68%  
9

### Medias

| <i>Tipo de medio</i> | <i>N</i> | <i>Media</i> | <i>Desv.Est.</i> | <i>IC de 95%</i>  |
|----------------------|----------|--------------|------------------|-------------------|
| Líquido              | 6        | 11.42        | 3.07             | (8.93,<br>13.91)  |
| semisolido           | 6        | 6.083        | 2.354            | (3.594,<br>8.573) |

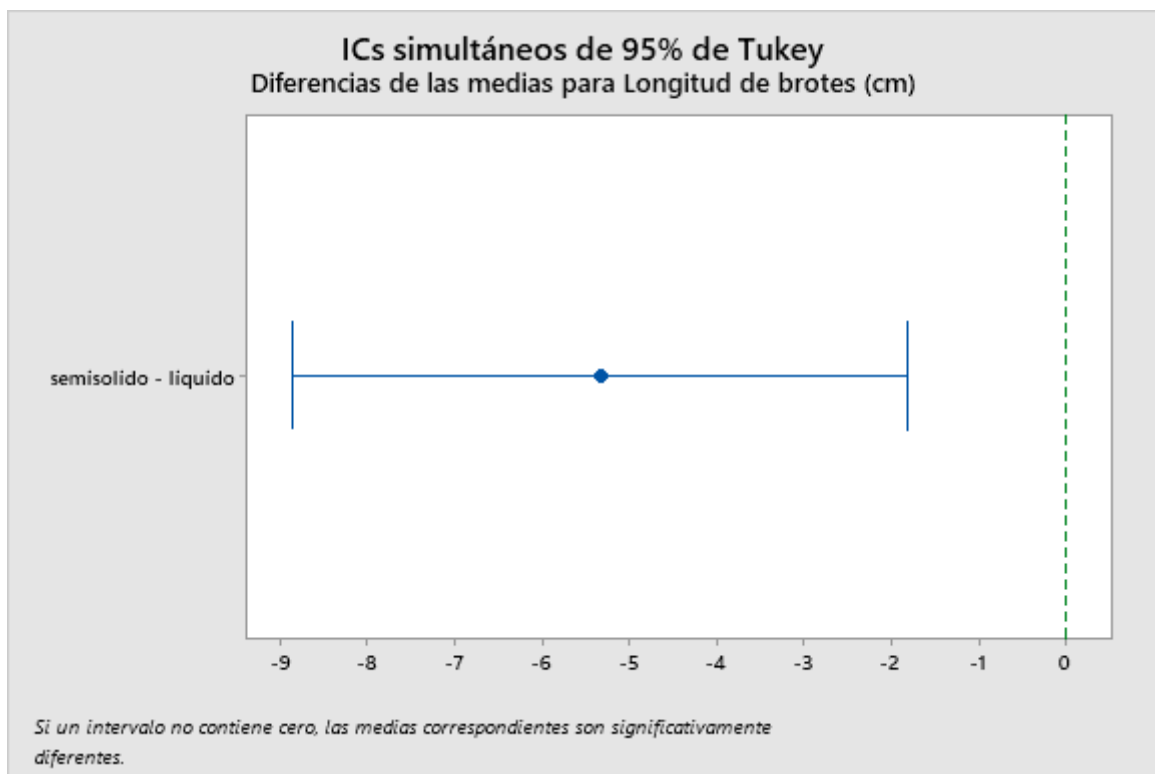
Desv.Est. agrupada = 2.73709

### Comparaciones en parejas de Tukey

*Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%*

| <i>Tipo de medio</i> | <i>N</i> | <i>Media</i> | <i>Agrupación</i> |
|----------------------|----------|--------------|-------------------|
| líquido              | 6        | 11.42        | A                 |
| semisolido           | 6        | 6.083        | B                 |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



**ANOVA de un solo factor: No. Brotes por explantes vs. Tipo de medio**

### Método

Hipótesis nula    Todas las medias son iguales  
Hipótesis alterna    No todas las medias son iguales

Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

### Información del factor

| Factor        | Niveles | Valores             |
|---------------|---------|---------------------|
| Tipo de medio | 2       | liquido, semisolido |

### Análisis de Varianza

| Fuente        | GL | SC     | MC     | Valor |         |
|---------------|----|--------|--------|-------|---------|
|               |    | Ajust. | Ajust. | F     | Valor p |
| Tipo de medio | 1  | 27.00  | 27.00  | 2.66  | 0.134   |
| Error         | 10 | 101.67 | 10.17  |       |         |
| Total         | 11 | 128.67 |        |       |         |

### Resumen del modelo

|        |        | R-cuad.              | R-cuad. |
|--------|--------|----------------------|---------|
|        |        | S R-cuad. (ajustado) | (pred)  |
| 3.1885 | 20.98% | 13.08%               | 0.00%   |
| 2      |        |                      |         |

### Medias

| Tipo de medio | N | Media | Desv.Est. | IC de 95%       |
|---------------|---|-------|-----------|-----------------|
| Liquido       | 6 | 5.83  | 4.36      | (2.93, 8.73)    |
| semisolido    | 6 | 2.833 | 1.169     | (-0.067, 5.734) |

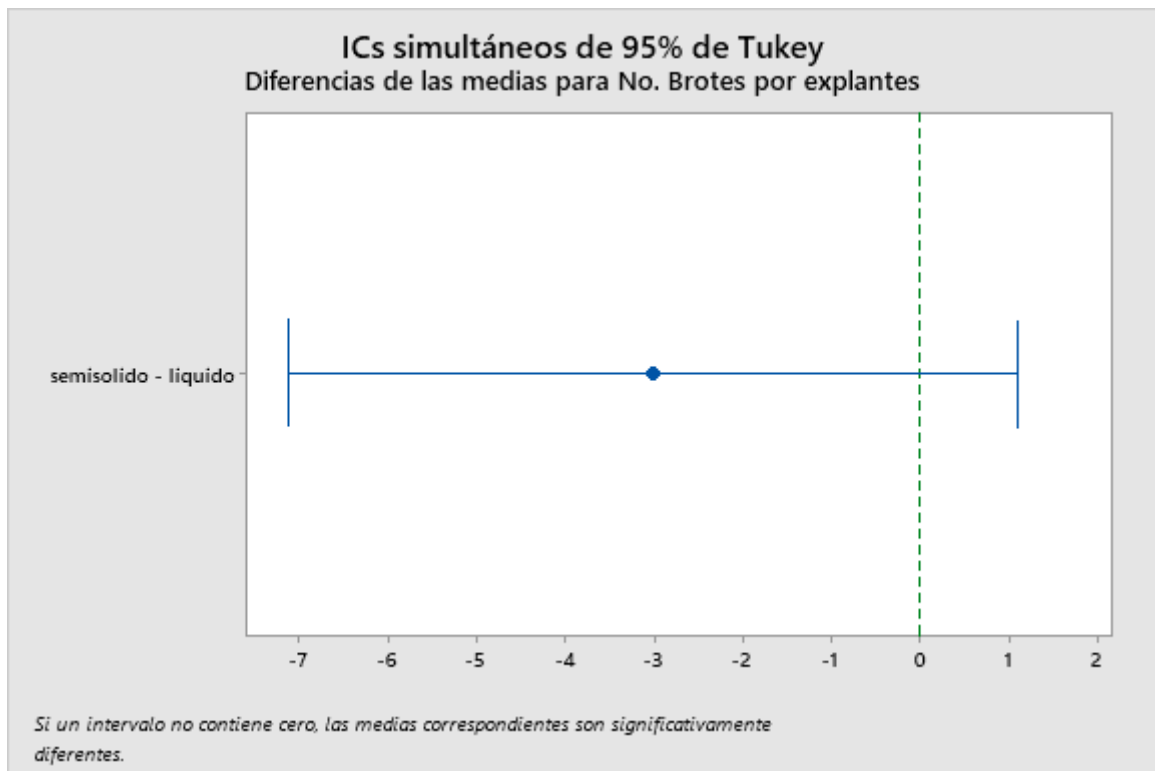
Desv.Est. agrupada = 3.18852

### Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tipo de medio | N | Media | Agrupación |
|---------------|---|-------|------------|
| Liquido       | 6 | 5.83  | A          |
| semisolido    | 6 | 2.833 | A          |

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



## ANOVA de un solo factor: No. De hojas por explante vs. Tipo de medio

### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

### Información del factor

| Factor        | Niveles Valores       |
|---------------|-----------------------|
| Tipo de medio | 2 liquido, semisolido |

### Análisis de Varianza

| Fuente        | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| Tipo de medio | 1      | 533.3        | 533.33       | 12.16      | 0.006      |
| Error         | 10     | 438.7        | 43.87        |            |            |
| Total         | 11     | 972.0        |              |            |            |

### Resumen del modelo

| S | R-<br>cuad. | R-<br>(ajustado) | R-<br>cuad.<br>(pred) |
|---|-------------|------------------|-----------------------|
|---|-------------|------------------|-----------------------|

6.6231 54.87% 50.36% 35.01%

9

## Medias

| Tipo de medio | N | Media | Desv.Est | . IC de 95%    |
|---------------|---|-------|----------|----------------|
| Liquido       | 6 | 22.67 | 7.97     | (16.64, 28.69) |
| semisolido    | 6 | 9.33  | 4.93     | (3.31, 15.36)  |

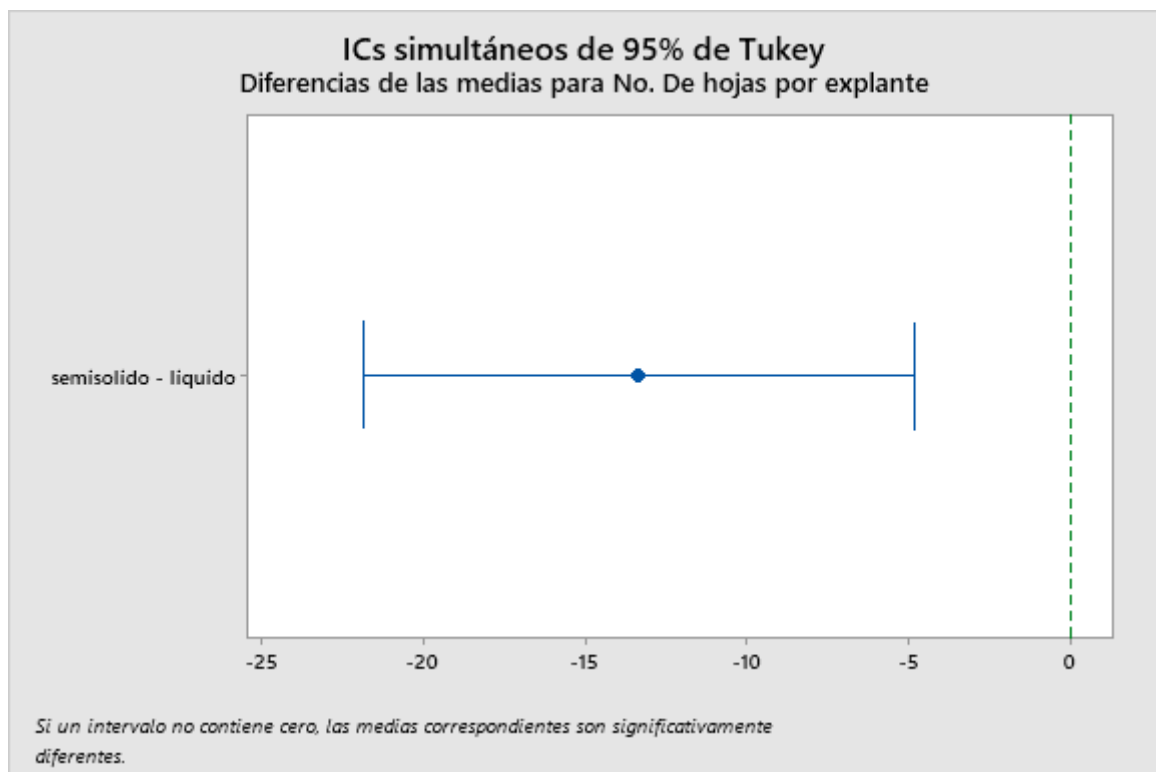
*Desv.Est. agrupada = 6.62319*

## Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tipo de medio | N | Media | Agrupación |
|---------------|---|-------|------------|
| Liquido       | 6 | 22.67 | A          |
| semisolido    | 6 | 9.33  | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## ANOVA de un solo factor: No. De raíces por explante vs. Tipo de medio

### Método

Hipótesis nula      Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna No todas las medias son iguales  
 Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

### Información del factor

| Factor        | Niveles | Valores             |
|---------------|---------|---------------------|
| Tipo de medio | 2       | liquido, semisolido |

### Análisis de Varianza

| Fuente        | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| Tipo de medio | 1   | 0.0000    | 0.00000   | 0.00    | 1.000   |
| Error         | 10  | 47.6667   | 4.76667   |         |         |
| Total         | 11  | 47.6667   |           |         |         |

### Resumen del modelo

| S           | R-cuad. R- (ajustado) | R-cuad. (pred) |
|-------------|-----------------------|----------------|
| 2.1832<br>7 | 0.00%                 | 0.00%          |

### Medias

| Tipo de medio | N | Media | Desv.Est. | IC de 95%      |
|---------------|---|-------|-----------|----------------|
| Liquido       | 6 | 3.167 | 1.602     | (1.181, 5.153) |
| semisolido    | 6 | 3.17  | 2.64      | (1.18, 5.15)   |

*Desv.Est. agrupada = 2.18327*

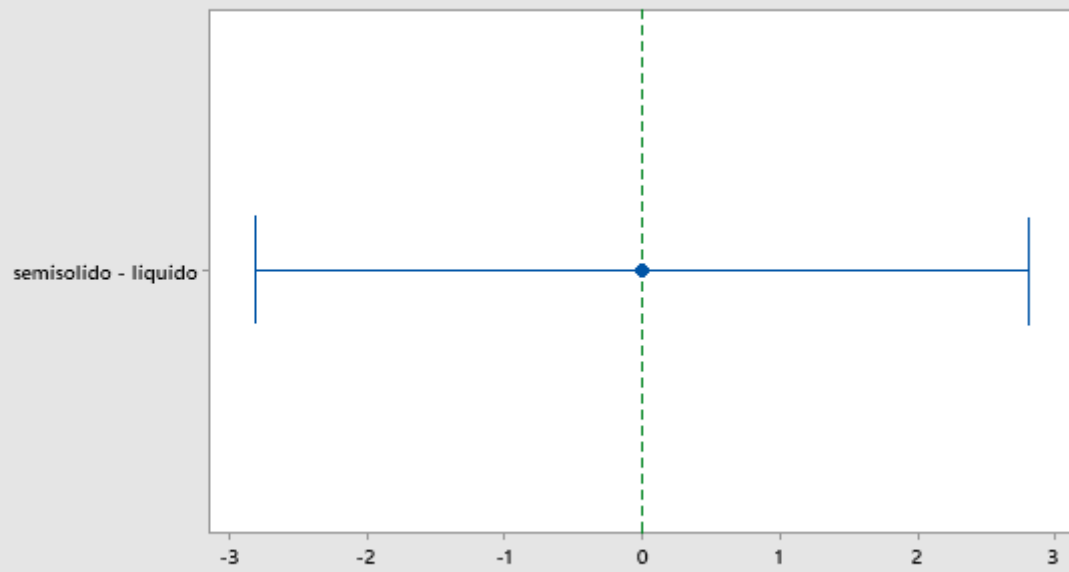
### Comparaciones en parejas de Tukey

#### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| Tipo de medio | N | Media | Agrupación |
|---------------|---|-------|------------|
| semisolido    | 6 | 3.17  | A          |
| Liquido       | 6 | 3.167 | A          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**ICs simultáneos de 95% de Tukey**  
Diferencias de las medias para No. De raíces por explante



*Si un intervalo no contiene cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.*

**ANEXO 6. Análisis de ANOVA y prueba de TUKEY de *Dendrobium* y *Cymbidium* en el sistema de inmersión temporal a 2mg/l de BAP mas 3mg/l de AIB.**

***DENDROBIUM***

**ANOVA de un solo factor: ALTURA EN CM. vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/**

**Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

**Información del factor**

| Factor                          | Niveles Valores       |
|---------------------------------|-----------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2 LIQUIDO, SEMISOLIDO |

**Análisis de Varianza**

| Fuente                          | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 1   | 156.2     | 156.203   | 20.47   | 0.000   |
| Error                           | 30  | 229.0     | 7.632     |         |         |
| Total                           | 31  | 385.2     |           |         |         |

**Resumen del modelo**

| S       | R-cuad. | R- (ajustado) | R- cuad. (pred) |
|---------|---------|---------------|-----------------|
| 2.76260 | 40.56%  | 38.57%        | 32.36%          |

**Medias**

| TRATAMIE<br>NTO<br>2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | N  | Media  | Desv.Est. | IC de 95%        |
|-------------------------------------------|----|--------|-----------|------------------|
| LIQUIDO                                   | 16 | 7.175  | 1.997     | (5.765, 8.585)   |
| SEMISOLIDO                                | 16 | 11.594 | 3.358     | (10.183, 13.004) |

*Desv.Est. agrupada = 2.76260*

**Comparaciones en parejas de Tukey**

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

TRATAMIE

NTO

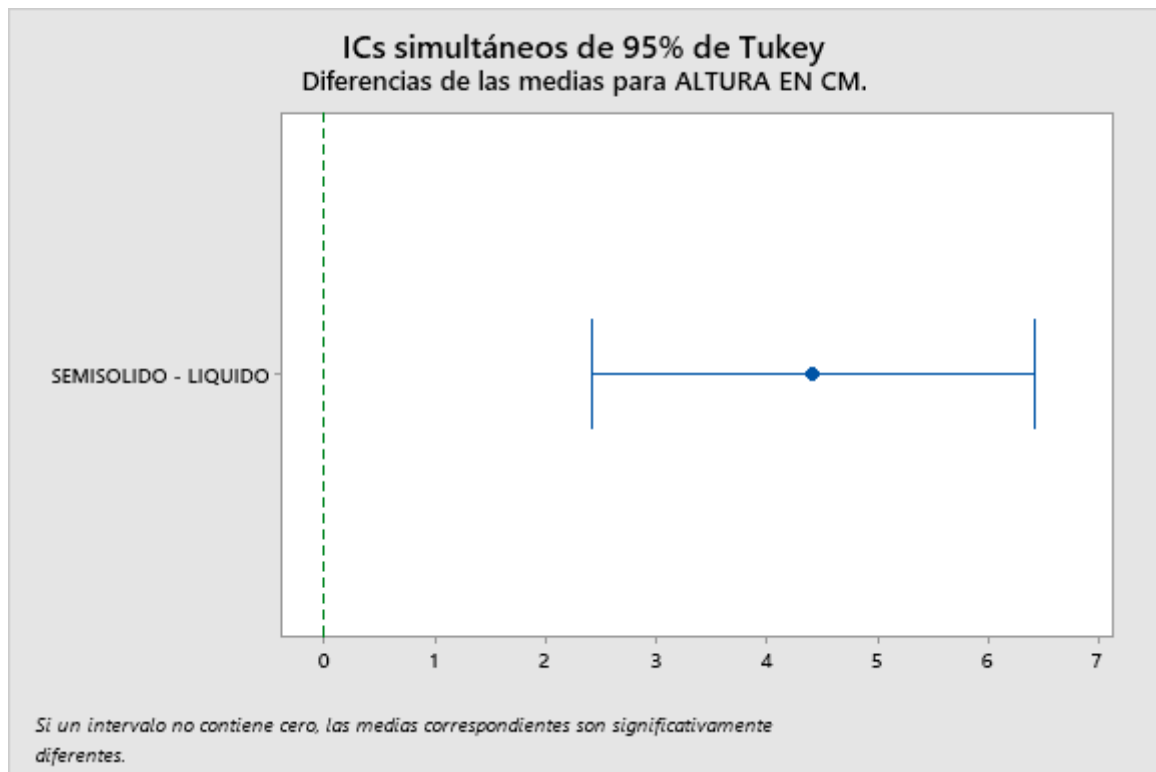
2mg/l DE

BAP - 3mg/ N Media Agrupación

SEMISOLIDO 16 11.594 A

LIQUIDO 16 7.175 B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



### ANOVA de un solo factor: NO. DE RAICES vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/

#### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| Factor                          | Niveles Valores       |
|---------------------------------|-----------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2 LIQUIDO, SEMISOLIDO |

## Análisis de Varianza

| Fuente                             | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|------------------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | 1      | 595.1        | 595.13       | 44.37      | 0.000      |
| Error                              | 30     | 402.4        | 13.41        |            |            |
| Total                              | 31     | 997.5        |              |            |            |

## Resumen del modelo

| S      | R-cuad.<br>cuad. | R- (ajustado<br>) | R-<br>cuad.<br>(pred) |
|--------|------------------|-------------------|-----------------------|
| 3.6623 | 59.66%           | 58.32%            | 54.10%                |
| 1      |                  |                   |                       |

## Medias

| TRATAMIE<br>NTO<br>2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | N  | Media | Desv.Est | IC de 95%         |
|-------------------------------------------|----|-------|----------|-------------------|
| LIQUIDO                                   | 16 | 2.813 | 2.198    | (0.943,<br>4.682) |
| SEMISOLIDO                                | 16 | 11.44 | 4.69     | (9.57,<br>13.31)  |

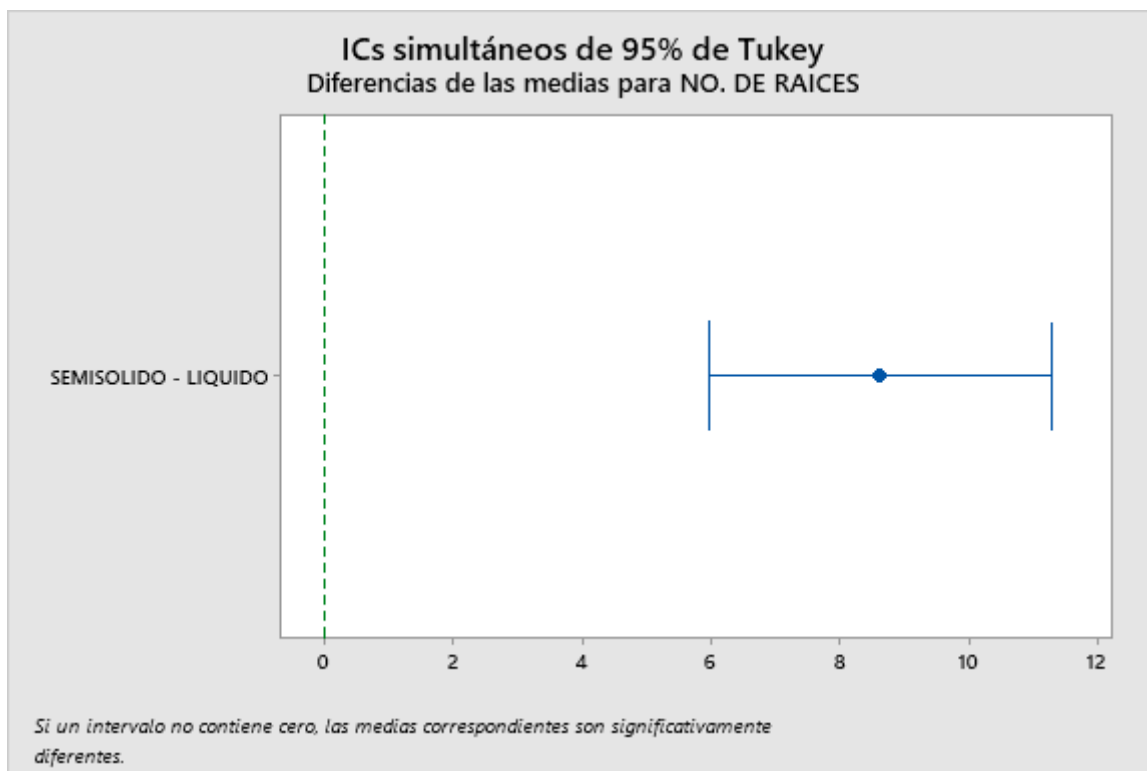
*Desv.Est. agrupada = 3.66231*

## Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| TRATAMIE<br>NTO<br>2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | N  | Media | Agrupación |
|-------------------------------------------|----|-------|------------|
| SEMISOLIDO                                | 16 | 11.44 | A          |
| LIQUIDO                                   | 16 | 2.813 | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



#### ANOVA de un solo factor: NO. DE HOJAS vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/

##### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

##### Información del factor

| Factor                          | Niveles Valores       |
|---------------------------------|-----------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2 LIQUIDO, SEMISOLIDO |

##### Análisis de Varianza

| Fuente                          | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 1   | 325.1     | 325.13    | 16.69   | 0.000   |
| Error                           | 30  | 584.4     | 19.48     |         |         |
| Total                           | 31  | 909.5     |           |         |         |

##### Resumen del modelo

| S | cuad. | R-<br>cuad.<br>(ajustado) | R-<br>cuad.<br>(pred) |
|---|-------|---------------------------|-----------------------|
|---|-------|---------------------------|-----------------------|

4.4135 35.75% 33.61% 26.90%  
2

## Medias

TRATAMIE

NTO

2mg/l DE

| BAP - 3mg/ | N  | Media | Desv.Est | . IC de 95%    |
|------------|----|-------|----------|----------------|
| LIQUIDO    | 16 | 11.81 | 5.54     | (9.56, 14.07)  |
| SEMISOLIDO | 16 | 5.438 | 2.874    | (3.184, 7.691) |

*Desv.Est. agrupada = 4.41352*

## Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

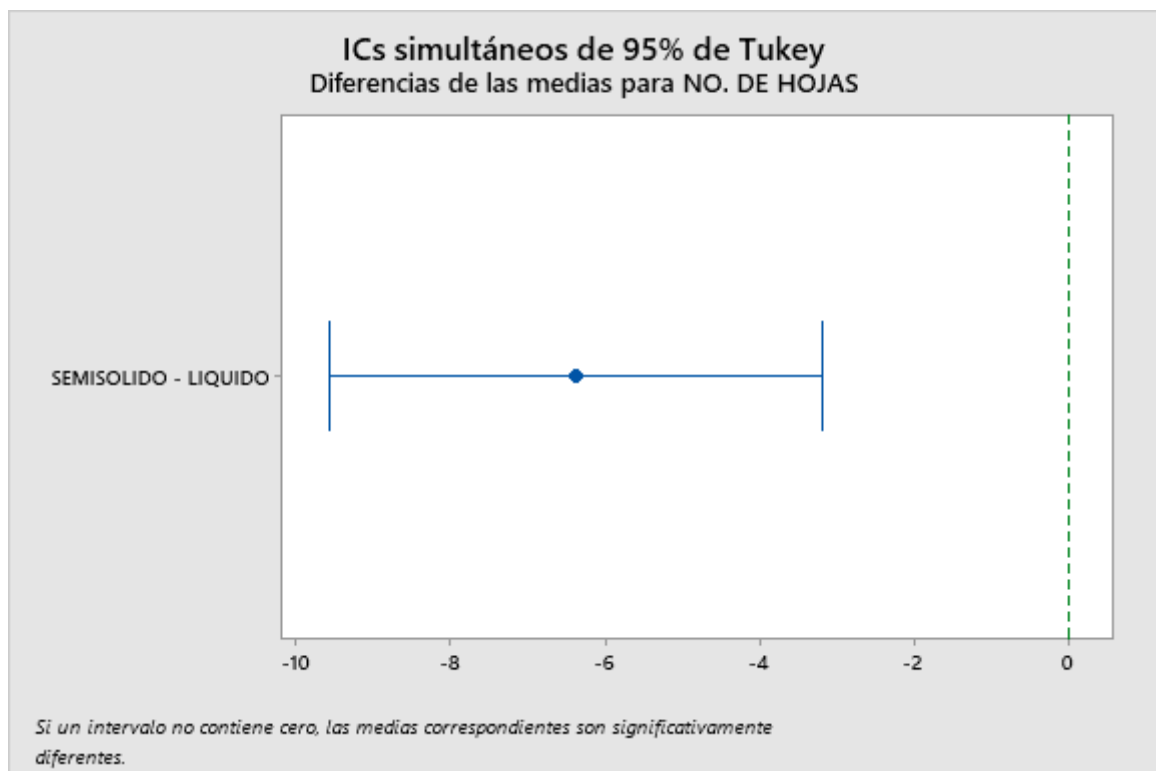
TRATAMIE

NTO

2mg/l DE

| BAP - 3mg/ | N  | Media | Agrupación |
|------------|----|-------|------------|
| LIQUIDO    | 16 | 11.81 | A          |
| SEMISOLIDO | 16 | 5.438 | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



**ANOVA de un solo factor: NO. DE BROTES vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/**

## Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### Información del factor

| Factor                          | Niveles | Valores             |
|---------------------------------|---------|---------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2       | LIQUIDO, SEMISOLIDO |

#### Análisis de Varianza

| Fuente                          | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 1      | 32.00        | 32.000       | 13.36      | 0.001      |
| Error                           | 30     | 71.87        | 2.396        |            |            |
| Total                           | 31     | 103.87       |              |            |            |

#### Resumen del modelo

| S       | R-cuad. | R-cuad. (ajustado) | R-cuad. (pred) |
|---------|---------|--------------------|----------------|
| 1.54785 | 30.81%  | 28.50%             | 21.27%         |

#### Medias

| TRATAMIE<br>NTO<br>2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | N  | Media | Desv.Est. | IC de 95%      |
|-------------------------------------------|----|-------|-----------|----------------|
| LIQUIDO                                   | 16 | 3.938 | 2.016     | (3.147, 4.728) |
| SEMISOLIDO                                | 16 | 1.938 | 0.854     | (1.147, 2.728) |

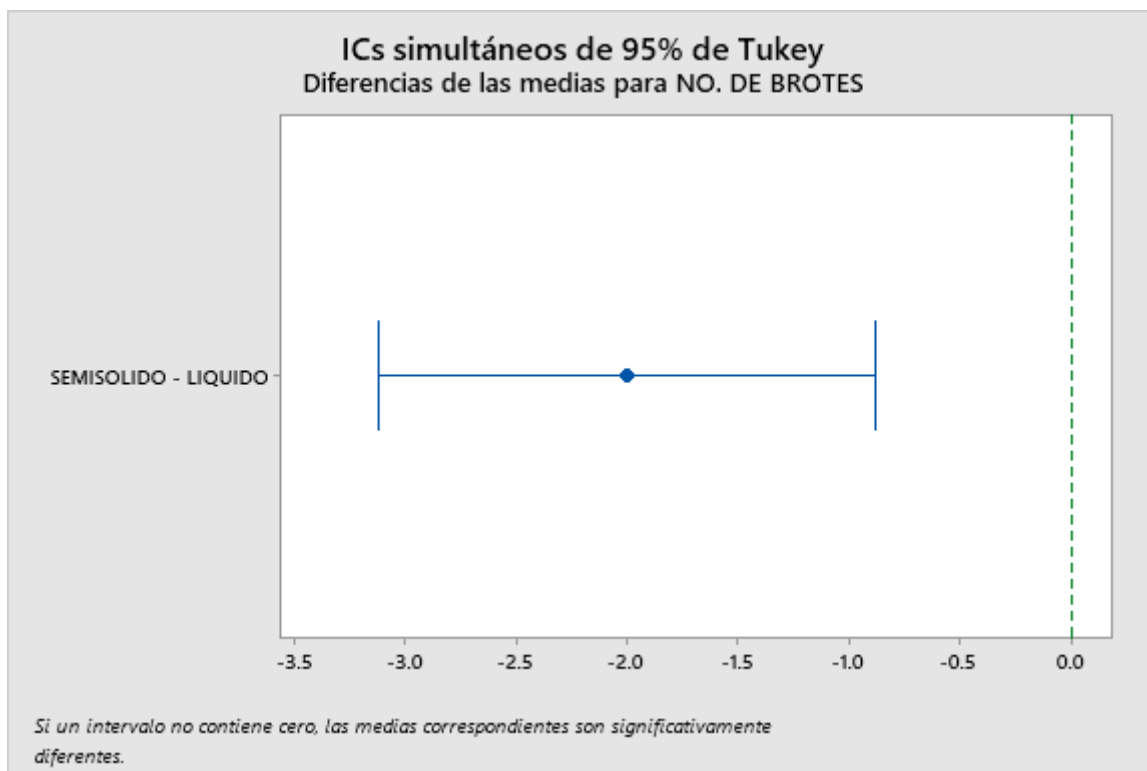
*Desv.Est. agrupada = 1.54785*

#### Comparaciones en parejas de Tukey

#### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| TRATAMIE<br>NTO<br>2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | N  | Media | Agrupación |
|-------------------------------------------|----|-------|------------|
| LIQUIDO                                   | 16 | 3.938 | A          |
| SEMISOLIDO                                | 16 | 1.938 | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## **CYMBIDIUM**

### **ANOVA de un solo factor: ALTURA EN CM. vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/**

#### **Método**

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

#### **Información del factor**

| Factor                          | Niveles Valores       |
|---------------------------------|-----------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2 LIQUIDO, SEMISOLIDO |

#### **Análisis de Varianza**

| Fuente                          | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 1      | 220.0        | 220.03       | 18.99      | 0.000      |
| Error                           | 34     | 394.0        | 11.59        |            |            |
| Total                           | 35     | 614.0        |              |            |            |

#### **Resumen del modelo**

| S           | R-<br>cuad. | R-cuad.<br>(ajustado<br>) | R-<br>cuad.<br>(pred) |
|-------------|-------------|---------------------------|-----------------------|
| 3.4040<br>3 | 35.84%      | 33.95%                    | 28.06%                |

### Medias

TRATAMIE

NTO

2mg/l DE

BAP - 3mg/

LIQUIDO

SEMISOLIDO

| N  | Media | Desv.Est | . IC de 95%       |
|----|-------|----------|-------------------|
| 18 | 9.47  | 4.52     | (7.84,<br>11.10)  |
| 18 | 4.528 | 1.667    | (2.897,<br>6.158) |

*Desv.Est. agrupada = 3.40403*

### Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

TRATAMIE

NTO

2mg/l DE

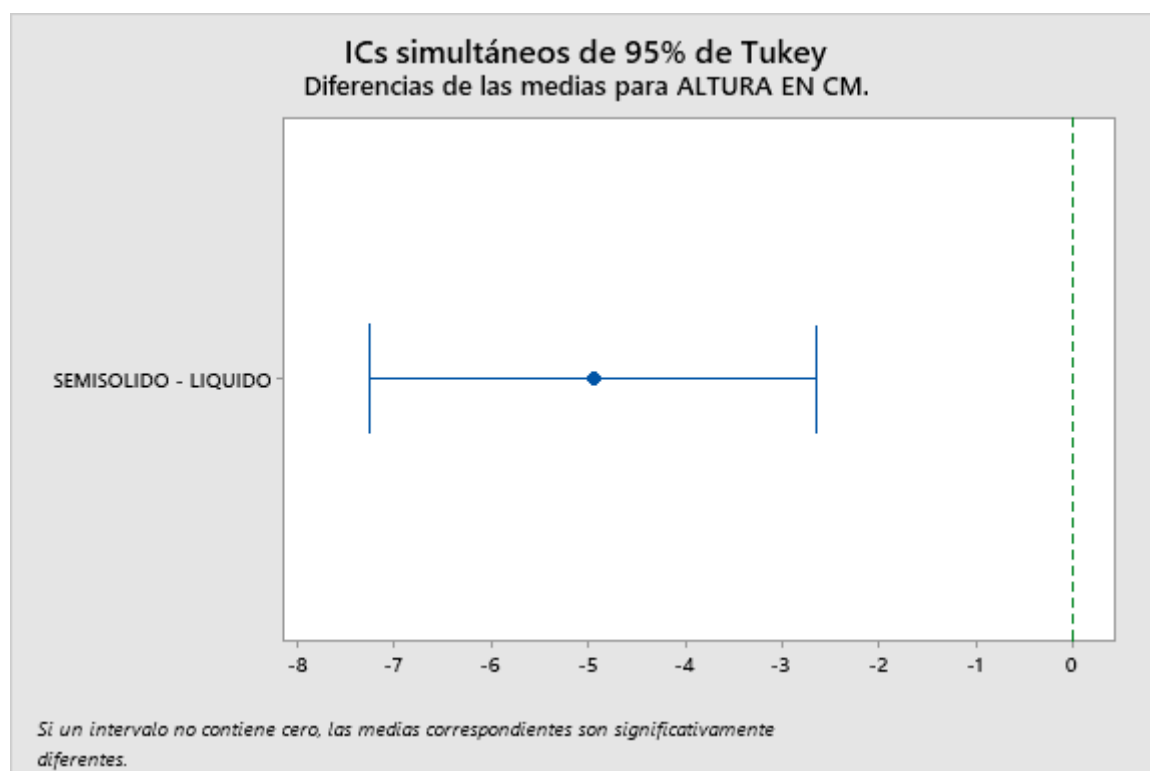
BAP - 3mg/

LIQUIDO

SEMISOLIDO

| N  | Media | Agrupación |
|----|-------|------------|
| 18 | 9.47  | A          |
| 18 | 4.528 | B          |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## ANOVA de un solo factor: NO. DE RAICES vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/

### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

### Información del factor

| Factor                          | Niveles | Valores             |
|---------------------------------|---------|---------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2       | LIQUIDO, SEMISOLIDO |

### Análisis de Varianza

| Fuente                          | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 1      | 14.69        | 14.694       | 5.58       | 0.024      |
| Error                           | 34     | 89.61        | 2.636        |            |            |
| Total                           | 35     | 104.31       |              |            |            |

### Resumen del modelo

| S           | R-cuad.<br>(ajustado) | R-cuad.<br>(pred) |
|-------------|-----------------------|-------------------|
| 1.6234<br>6 | 14.09%                | 11.56%            |
|             |                       | 3.68%             |

### Medias

| TRATAMIE<br>NTO<br>2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | N  | Media | Desv.Est | . IC de 95%       |
|-------------------------------------------|----|-------|----------|-------------------|
| LIQUIDO                                   | 18 | 2.500 | 2.229    | (1.722,<br>3.278) |
| SEMISOLIDO                                | 18 | 1.222 | 0.548    | (0.445,<br>2.000) |

*Desv.Est. agrupada = 1.62346*

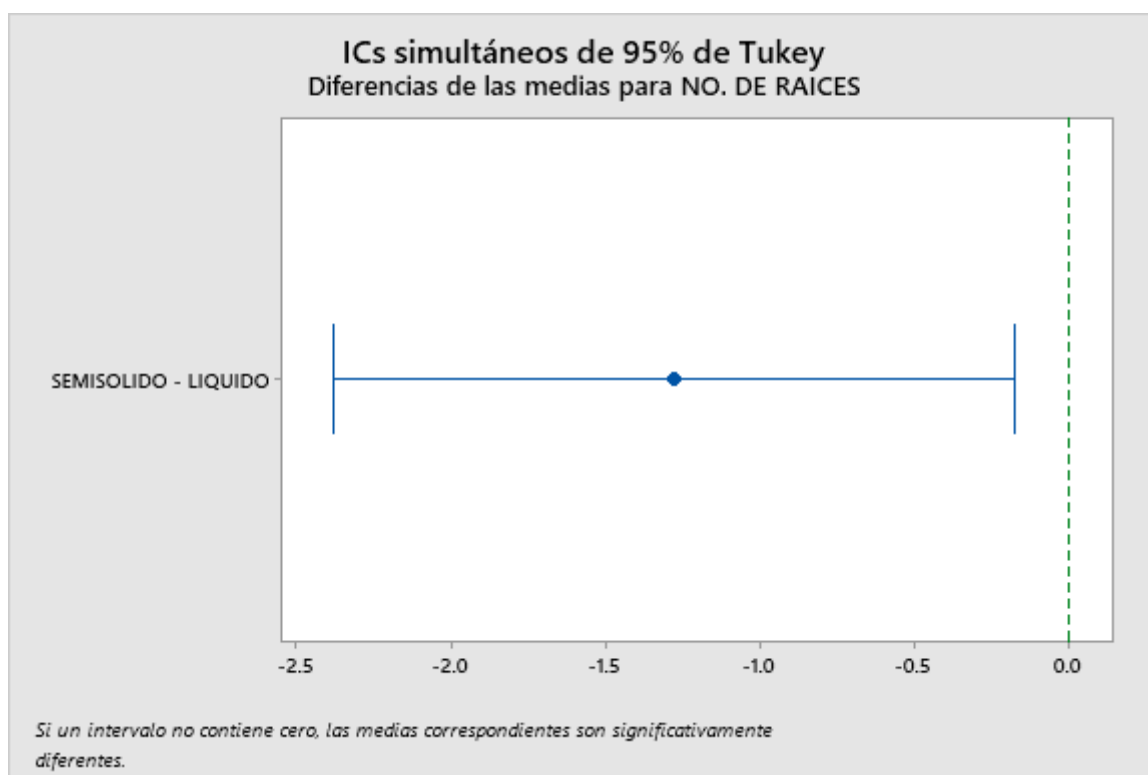
### Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| TRATAMIE<br>NTO<br>2mg/l DE<br>BAP - 3mg/ | N | Media | Agrupación |
|-------------------------------------------|---|-------|------------|
|-------------------------------------------|---|-------|------------|

LIQUIDO 18 2.500 A  
SEMISOLIDO 18 1.222 B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



**ANOVA de un solo factor: NO. DE HOJAS vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/**

### Método

Hipótesis nula Todas las medias son iguales  
Hipótesis alterna No todas las medias son iguales  
Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

### Información del factor

| Factor                          | Niveles Valores       |
|---------------------------------|-----------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2 LIQUIDO, SEMISOLIDO |

### Análisis de Varianza

| Fuente                          | G<br>L | SC<br>Ajust. | MC<br>Ajust. | Valor<br>F | Valor<br>p |
|---------------------------------|--------|--------------|--------------|------------|------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 1      | 93.44        | 93.44        | 4.05       | 0.052      |
| Error                           | 34     | 783.56       | 23.05        |            |            |
| Total                           | 35     | 877.00       |              |            |            |

## Resumen del modelo

| S      | R-cuad. | R- (ajustado ) | R- cuad. (pred) |
|--------|---------|----------------|-----------------|
| 4.8006 | 10.66%  | 8.03%          | 0.00%           |
| 0      |         |                |                 |

## Medias

| TRATAMIE   |          |       |             |                |
|------------|----------|-------|-------------|----------------|
| NTO        |          |       |             |                |
| 2mg/l DE   | Desv.Est |       |             |                |
| BAP - 3mg/ | N        | Media | . IC de 95% |                |
| LIQUIDO    | 18       | 9.11  | 5.32        | (6.81, 11.41)  |
| SEMISOLIDO | 18       | 5.889 | 4.213       | (3.589, 8.188) |

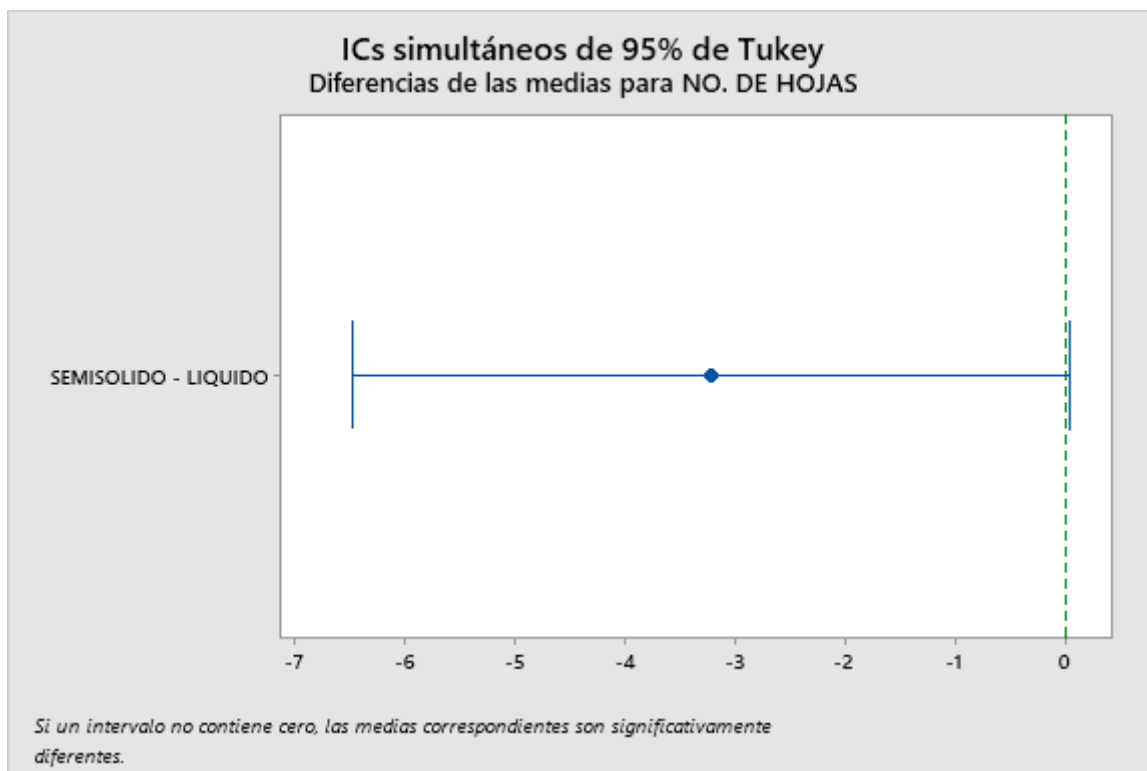
*Desv.Est. agrupada = 4.80060*

## Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

| TRATAMIE   |           |       |   |  |
|------------|-----------|-------|---|--|
| NTO        |           |       |   |  |
| 2mg/l DE   | Agrupació |       |   |  |
| BAP - 3mg/ | N         | Media | n |  |
| LIQUIDO    | 18        | 9.11  | A |  |
| SEMISOLIDO | 18        | 5.889 | A |  |

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



#### ANOVA de un solo factor: NO. DE BROTES vs. TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/

##### Método

|                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| Hipótesis nula         | Todas las medias son iguales    |
| Hipótesis alterna      | No todas las medias son iguales |
| Nivel de significancia | $\alpha = 0.05$                 |

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

##### Información del factor

| Factor                          | Niveles Valores       |
|---------------------------------|-----------------------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 2 LIQUIDO, SEMISOLIDO |

##### Análisis de Varianza

| Fuente                          | G L | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|---------------------------------|-----|-----------|-----------|---------|---------|
| TRATAMIENTO 2mg/l DE BAP - 3mg/ | 1   | 38.03     | 38.03     | 1.84    | 0.184   |
| Error                           | 34  | 702.94    | 20.67     |         |         |
| Total                           | 35  | 740.97    |           |         |         |

##### Resumen del modelo

| S | cuad. | R- (ajustado) | R- cuad. (pred) |
|---|-------|---------------|-----------------|
|---|-------|---------------|-----------------|

4.5469 5.13% 2.34% 0.00%  
6

## Medias

TRATAMIE

NTO

2mg/l DE

BAP - 3mg/

LIQUIDO

N Media

18

6.00

Desv.Est

6.03

. IC de 95%

(3.82,

8.18)

SEMISOLIDO

18

3.944

2.235

(1.766,

6.122)

*Desv.Est. agrupada = 4.54696*

## Comparaciones en parejas de Tukey

### Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

TRATAMIE

NTO

2mg/l DE

BAP - 3mg/

LIQUIDO

N Media

18

6.00

Agrupació

n

A

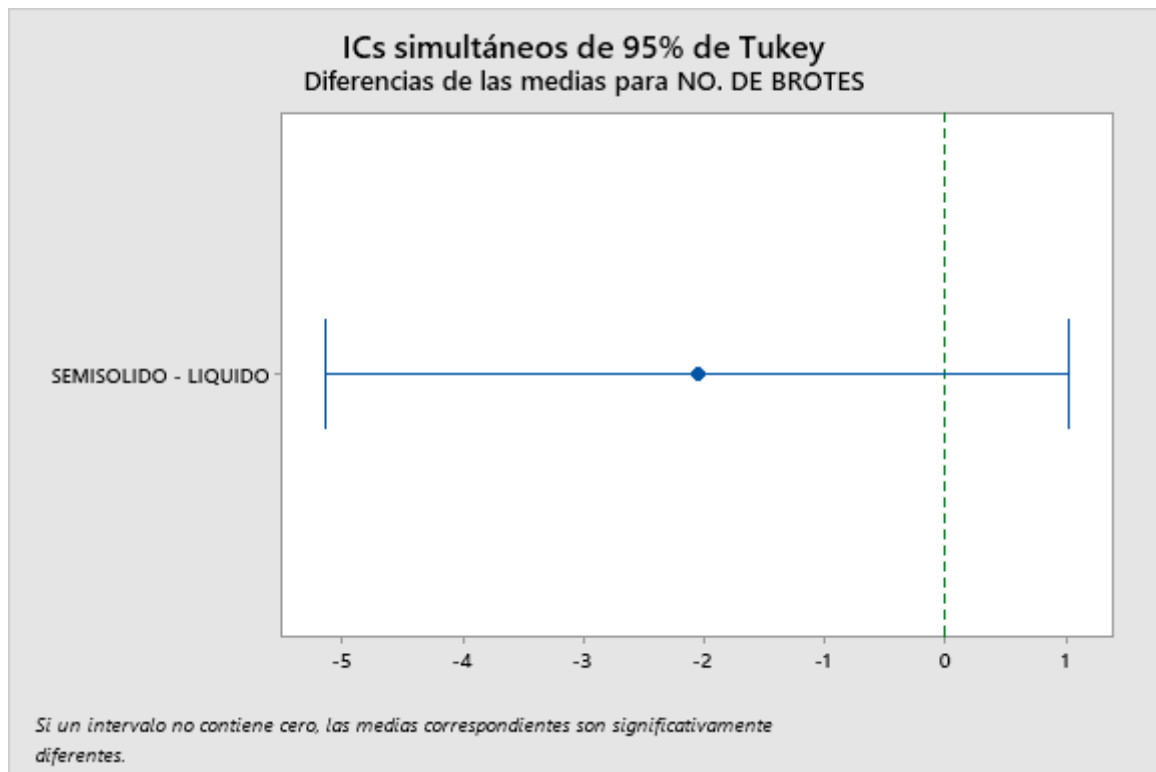
SEMISOLIDO

18

3.944

A

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*



## ANEXO 7 COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MURASHIGE Y SKOOG

En este anexo se muestra la composición del medio de cultivo Murashige y Skoog (1962), recuperado de Hurtado y Merino (1987)

| COMPUESTOS                                                                     | mg /L |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )                                 | 1650  |
| Nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ )                                          | 1900  |
| Sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )              | 370   |
| Sulfato de manganeso, monohidrato ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) | 16.9  |
| Sulfato de zinc ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )                  | 8.6   |
| Sulfato cúprico ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )                  | 0.025 |
| Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )                | 440   |
| Yoduro de potasio (KI)                                                         | 0.83  |
| Cloruro de cobalto ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )               | 0.025 |
| Fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )                                | 170   |
| Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )                                       | 6.2   |
| Molibdato de sodio ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )     | 0.25  |
| Sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )                  | 27.8  |
| Ácido etilendiaminotetraacético, sal disódica ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ )     | 37.3  |