

UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE DE
DIOS
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL
Y MEDIO AMBIENTE



“Efecto de diferentes medios de cultivo en micropropagación de *Aniba Rosaeodora* Ducke (*palo rosa*) mediante yemas apicales, provincia Tambopata - Madre de Dios”

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA FORESTAL Y
MEDIO AMBIENTE**

AUTOR:

Bach. HUAMAN CONDORI, Doriza

ASESOR:

M.Sc. MIRÓ AGURTO, Jimmy Jeanine

CO-ASESOR:

Dr. ROBLES CUEVA, Henry

Puerto Maldonado, Agosto de 2026

UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE DE
DIOS
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL
Y MEDIO AMBIENTE



“Efecto de diferentes medios de cultivo en micropropagación de *Aniba Rosaeodora* Ducke (*palo rosa*) mediante yemas apicales, provincia Tambopata - Madre de Dios”

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA FORESTAL Y
MEDIO AMBIENTE**

AUTOR:

Bach. HUAMAN CONDORI, Doriza

ASESOR:

M.Sc. MIRÓ AGURTO, Jimmy Jeanine

CO-ASESOR:

Dr. ROBLES CUEVA, Henry

Puerto Maldonado, Agosto de 2026

RST-RI_Efecto de diferentes medios de cultivo en micropropagación de Aniba Rosaeodora Ducke (palo rosa) mediante yemas apicales, provincia Tambopata - Madre de Dios

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%	5%	1%	4%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional Amazonica de Madre de Dios	3%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unamad.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
3	Submitted to Universidad Nacional de Piura	1%
	Trabajo del estudiante	
4	orcid.org	1%
	Fuente de Internet	

Excluir citas	Activo	Excluir coincidencias	< 1%
Excluir bibliografía	Activo		

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía constante, la fuente de mi fortaleza y el refugio en cada momento de duda. Gracias por iluminar mi camino y darme la esperanza necesaria para alcanzar este sueño.

A mi querido abuelito Leoncio Condori, ejemplo vivo de esfuerzo, humildad y perseverancia. Tu presencia ha sido un faro que me orienta y me recuerda que con trabajo y dedicación todo es posible.

A mi tía Basilia, quien ha sido el verdadero pilar en este recorrido. Tu apoyo incondicional, tu ternura y tu entrega han sido la fuerza que me sostuvo en los momentos más difíciles. Este logro es también tuyo, porque sin tu guía y respaldo no habría llegado hasta aquí.

A mi madre Luz Marina, por su amor y enseñanzas que han dejado huella en mi vida. Aunque tu apoyo no fue tan constante en este proceso, tu presencia sigue siendo significativa y valiosa en mi formación personal.

A Yobel, mi incondicional, quien me acompañó desde los primeros pasos de mi carrera, alentándome a seguir adelante cuando todo parecía difícil. La vida nos separó por tres años, pero el destino nos volvió a reunir en el momento más decisivo: cuando elaboraba mis resultados y la redacción final de esta tesis. Tu regreso fue un renacer de fuerzas y esperanzas, y tu apoyo constante en esta etapa final me dio la confianza y el impulso que necesitaba para culminar este sueño. Este logro lleva tu huella, porque fuiste parte esencial de mi formación y de mi victoria personal.

A todos ellos, dedico este esfuerzo convertido en logro, con la certeza de que cada palabra escrita y cada página construida llevan impreso el amor, la fe y la sabiduría que me han acompañado en este viaje.

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento al CITE Productivo Madre de Dios, institución que me brindó el espacio y las facilidades necesarias para la realización de esta investigación.

Al Director Sergio, por su apoyo y orientación constante, y al equipo de laboratorio conformado por los técnicos Olegario, Gerardo, Maxsuel y Jarol, quienes con su dedicación y colaboración hicieron posible el desarrollo de este trabajo.

A la ONG Camino Verde y a su gerente Robin Van Low, por el valioso aporte de los plantones que fueron fundamentales para la ejecución del proyecto.

A mi asesor, el Ing. Jimmy Miro, por su guía académica y profesional, y al Dr. Henry Robles, co-asesor de esta investigación, por sus valiosas sugerencias y acompañamiento en cada etapa del proceso.

Finalmente, agradezco a todas las personas e instituciones que, de manera directa o indirecta, contribuyeron al logro de este proyecto, el cual representa no solo un esfuerzo personal, sino también un compromiso con el desarrollo sostenible de nuestra región.

PRESENTACIÓN

Este proyecto de investigación, titulado “Efecto de Diferentes Medios en la Micropropagación de *Aniba rosaeodora* Ducke (Palo Rosa) usando yemas apicales en la Provincia de Tambopata - Madre de Dios”, es crucial por la ausencia de generación de modo natural de bosques de *A. rosaeodora*. Esta situación supone una amenaza para la producción y extracción sostenible de sus aceites esenciales. El proyecto pretende abordar esta cuestión estudiando el impacto de diversos medios en la micropropagación de *A. rosaeodora*, centrándose específicamente en las yemas apicales.

Para ello, la finalidad del estudio pretende el establecimiento de un protocolo eficiente de asepsia que busca minimizar la contaminación microbiana, siendo entre los factores principales que limita el éxito del cultivo in vitro, garantizando así condiciones óptimas para el desarrollo inicial del material vegetal. Asimismo, el análisis del índice de supervivencia de yemas que se aplican en cada fase de la micropropagación permite evaluar la adaptabilidad y respuesta fisiológica del explante frente a los distintos tratamientos, identificando las etapas más críticas del proceso. Finalmente, la determinación de la concentración e interacción óptima en los modos de cultivo tiene como finalidad maximizar el crecimiento, la diversificación y el enraizamiento de los explantes, optimizando los recursos y elevando la eficiencia productiva.

De esta manera, los objetivos se orientan a consolidar un sistema de micropropagación técnicamente confiable que no solo impulse la producción sostenida de *A. rosaeodora*, sino que también favorezca la extracción responsable de sus aceites esenciales y aporte de manera directa a la conservación de la especie de alto valor ecológico.

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de los medios de cultivo en la micropropagación de la especie *Aniba rosaeodora* mediante yemas apicales, por lo que se consideró un nivel explicativo, tipo aplicada y diseño experimental. Para ello, se empleó un DCA con arreglo factorial 2×3 , con dos concentraciones de sales Murashige & Skoog (50% y 100%) y tres niveles de sacarosa (20, 30 y 40 g/L), generándose seis tratamientos con 30 repeticiones cada uno, incluyendo 210 plántulas en la fase de introducción, posteriormente los explantes sobrevivientes fueron manipulados en las fases de multiplicación y enraizamiento. Los resultados demostraron que la concentración de NaClO al 1,5% redujo parcialmente la contaminación, mientras que, el 2% mostró alta desinfección superficial, pero limitaciones frente a contaminaciones endógenas. En el establecimiento, los tratamientos T5 y T6 presentaron mayores tasas de supervivencia, seguidos de T3 y T4, asociándose su mejor desempeño a un balance óptimo entre nutrientes minerales y concentración de sacarosa. En la multiplicación y enraizamiento, el tratamiento T3 fue el más efectivo, con mejor respuesta fisiológica y un comportamiento microbiológico más estable, aunque sin diferencias estadísticas significativas en el enraizamiento. Se concluye que los medios de cultivo influyen de manera determinante en la micropropagación de *A. rosaeodora*, donde la combinación óptima de sales, sacarosa y reguladores de crecimiento mejora la supervivencia y respuesta de los explantes, destacando el NaClO al 1,5% y los tratamientos T5, T6 y T3 como los más eficientes.

Palabras clave: Micropropagación, yemas apicales, in vitro, reguladores, enraizamiento.

ABSTRACT

The study aimed to determine the effect of culture media on the micropropagation of the species *Aniba rosaeodora* using apical buds. Therefore, it was considered an explanatory level, applied type, and experimental design. To this end, a 2×3 factorial DCA was used, with two concentrations of Murashige & Skoog salts (50% and 100%) and three levels of sucrose (20, 30, and 40 g/L), generating six treatments with 30 replicates each, including 210 seedlings in the introduction phase. Subsequently, the surviving explants were manipulated in the multiplication and rooting phases. The results showed that a 1.5% NaClO concentration partially reduced contamination, while 2% showed high surface disinfection but limitations against endogenous contamination. In the establishment phase, treatments T5 and T6 had higher survival rates, followed by T3 and T4, with their better performance being associated with an optimal balance between mineral nutrients and sucrose concentration. In the multiplication and rooting phases, treatment T3 was the most effective, with a better physiological response and more stable microbiological behavior, although there were no statistically significant differences in rooting. It is concluded that culture media have a decisive influence on the micropropagation of *A. rosaeodora*, where the optimal combination of salts, sucrose, and growth regulators improves the survival and response of explants, with 1.5% NaClO and treatments T5, T6, and T3 standing out as the most efficient.

Keywords: Micropropagation, apical buds, in vitro, regulators, rooting.

INTRODUCCIÓN

Aniba rosaeodora Ducke es una especie de árbol utilizada por su madera, el cual es altamente apreciada por su significativo valor económico, atribuido principalmente a su aceite que produce, rico en linalool, una sustancia de fijación aromática. Este compuesto encuentra aplicación en la elaboración de jabones, perfumes y fragancias. La madera de palo de rosa, proveniente de esta especie, se destaca en América del Sur por su extraordinaria belleza y refinamiento, gracias a sus destacadas cualidades mecánicas y físicas (Kometter 2019).

En esta perspectiva, el desafío que enfrenta el palo de rosa es similar al de numerosas especies forestales valiosas, ya que resulta complicado propagarlas debido a la escasa producción y viabilidad de sus semillas, así como a la lentitud en su crecimiento y la demora en el proceso de floración. Ya que la obtención de semillas viables es restringida en cantidad para la micropropagación, la producción extensiva de plántulas puede enfrentar restricciones tanto debido a la falta de disponibilidad o acceso adecuado a estas semillas, como a problemas de contaminación o susceptibilidad sanitaria. Estos factores representan limitaciones prácticas para la aplicación de la técnica de micropropagación a partir de yemas apicales.

En esta investigación se realizó la evaluación de los efectos durante el cultivo durante la micropropagación de *A. rosaeodora* para ello obtener un protocolo viable para la reintroducción en su hábitat natural, que se encuentra en peligro de extinción según los CITES y su gran valor en aprovechamiento sostenible de sus aceites esenciales.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

PRESENTACIÓN

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN 1

1.1. Descripción del problema..... 1

1.2. Formulación del problema..... 2

1.2.1. Problema general..... 2

1.2.2. Problemas específicos..... 2

1.3. Objetivos 3

1.3.1. Objetivo general..... 3

1.3.2. Objetivos específicos 3

1.4. Variables 3

1.4.1. Variable dependiente 3

1.4.2. Variables independientes 3

1.5. Operacionalización de variables 3

1.6. Hipótesis..... 5

1.6.1. Hipótesis general. 5

1.6.2. Hipótesis específicas. 5

1.7. Justificación..... 5

1.8. Consideraciones éticas 6

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO 7

2.1. Antecedentes de estudio..... 7

2.2. Marco teórico..... 13

2.2.1.	Descripción taxonómica de la especie	13
2.2.2.	Distribución geográfica	13
2.2.3.	Descripción botánica.....	14
2.2.4.	Propagación vegetativa	14
2.2.5.	Micropropagación vegetal.....	14
2.2.6.	Cultivo de tejidos vegetales	15
2.2.7.	Tipos de micropropagación	16
2.2.8.	Propagación in vitro	17
2.2.9.	Medios de cultivo	17
2.2.10.	Reguladores de crecimiento	17
2.2.11.	Fuentes de carbono	18
2.2.12.	La Asepsia.....	19
2.2.13.	Factores externos del cultivo	19
2.3.	Definición de términos.....	19
CAPITULO III: METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN		21
3.1.	Lugar de estudio.....	21
3.2.	Tipo de estudio.....	22
3.3.	Diseño de estudio	22
3.4.	Población y muestra.....	24
3.4.1.	Población	24
3.4.2.	Muestra	24
3.5.	Métodos y técnicas	25
3.5.1.	Fase de invernadero	25
3.5.2.	Fase laboratorio	26
3.6.	Materiales y equipos e insumos.....	29
3.7.	Tratamientos de los datos.....	31
3.8.	Análisis de datos	31

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES	52
REFERENCIAS	53
ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de variables para el presente estudio	4
Tabla 2 Diferentes combinaciones de los factores de estudio	22
Tabla 3 Combinaciones de los tratamientos con los reguladores de crecimiento	23
Tabla 4 Combinación de los tratamientos de multiplicación y auxina para el enraizamiento.	24
Tabla 5 Prueba de Kruskal-Wallis para la variable viable	34
Tabla 6 Pruebas post hoc para la variable viable.....	34
Tabla 7 Prueba de Kruskal-Wallis para la variable no viable	35
Tabla 8 Pruebas post hoc para la variable no viable	36
Tabla 9 Prueba de Kruskal-Wallis para la variable cantidad de hojas	37
Tabla 10 Prueba de Kruskal-Wallis para la variable bacterias	39
Tabla 11 Prueba de Kruskal-Wallis para la variable hongos	39
Tabla 12 Prueba de Kruskal-Wallis para la variable asépticos	40
Tabla 13 Pruebas post hoc para la variable asépticos	41
Tabla 14 Crecimiento en la fase de multiplicación de <i>A. rosaeodora</i>	43
Tabla 15 Crecimiento en la fase de enraizamiento de <i>A. rosaeodora</i>	44
Tabla 16 Pruebas de normalidad de crecimiento en la fase de multiplicación de <i>A. rosaeodora</i>	44
Tabla 17 Pruebas de normalidad Crecimiento en la fase de enraizamiento de <i>A. rosaeodora</i>	45
Tabla 18 Prueba de Kruskal-Wallis para crecimiento en la fase de multiplicación y enraizamiento de <i>A. rosaeodora</i>	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Referencia de ubicación del laboratorio</i>	21
Figura 2 <i>Asepsia y supervivencia de los explantes</i>	32
Figura 3 <i>Viabilidad de los tratamientos.....</i>	33
Figura 4 <i>Cantidad de explantes con hojas en la fase de establecimiento de A. rosaeodora.</i>	37
Figura 5 <i>Nivel de contaminación y condición aséptica en los tratamientos..</i>	38
Figura 6 <i>Promedio de número de brotes por tratamiento en 30 repeticiones.</i>	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Matriz de consistencia

Anexo 2 Instrumento de recolección de datos

Anexo 3 Solicitud de autorización para realización del estudio

Anexo 4 Evidencia fotográfica del esquema metodológico de la investigación

Anexo 5 Evidencia fotográfica de los resultados obtenidos por tratamientos

Anexo 6 Constancia de identificación botánica de la especie estudiada

Anexo 7 Composición del medio del cultivo

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción del problema

La especie *Aniba rosaeodora* Ducke, o palo rosa, ha sido categorizada en peligro (EN) conforme al Decreto Supremo N.º 043-2006-AG, mediante la cual se ve aprobada la categorización de flora silvestre amenazada. Este marco normativo se establece especialmente en el artículo 2, que queda prohibido extraer, recolectar, poseer, transportar y exportar cualquier espécimen de esta especie (Ministerio de Agricultura, 2006). Así también, en el transcurso de la 15.^a reunión de la Conferencia de las Partes, se dispuso su incorporación en el Apéndice II de CITES (COP 15; Doha, 2010).

Durante todo el siglo XX se consideraba que el palo de rosa era una especie común en la Amazonía peruana, pero sus poblaciones han disminuido significativamente en los últimos tiempos. Encontrar ejemplares maduros de esta especie en particular es especialmente difícil en la región debido a la sobreexplotación (IIAP, 2021). Gutiérrez (2023) manifestó las potencialidades de esta especie, en especial para que se extraiga aceites esenciales, tales como el linalool de las hojas de palo de rosa y los tallos. Asimismo, se utiliza la técnica de extracción mediante destilación al vapor para llevar a cabo este procedimiento dentro del laboratorio de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

A. rosaeodora presenta desafíos comunes así como muchas especies forestales valiosas, como el retardo en la floración, el crecimiento lento y la baja producción y viabilidad de sus semillas (Herrera 2022). Estudios anteriores han señalado la dificultad en la germinación rápida de especies leñosas similares, lo que resulta en una exposición significativa a la depredación por parte de insectos y aves (Herrera Pinedo, 2022; Kometter, 2019). Según Arturo (2018), los estudios realizados sobre esta especie

evidencian que su baja fructificación anual, junto con el fuerte ataque que sufre por los insectos en ciertas temporadas a sus semillas, se ha convertido en un factor que limita de manera significativa la producción de plántulas.

Diversos estudios sobre la germinación mediante semillas, esquejes y otros métodos no han arrojado resultados eficaces en los últimos años. Por ello, se ha recurrido a estudios en biotecnología in vitro. Jardim (2010) investigó los impactos de reguladores de crecimiento en la regeneración in vitro de palo de rosa en Brasil, destacando la importancia de las auxinas en este proceso. Otro estudio realizado por Handa, Sampaio y Quisen (2005) se centraron en el establecimiento in vitro de explantes de *Aniba rosaeodora* Ducke, logrando una supervivencia notable en brotes embrionarios y en explantes de yemas de palo rosa.

Bajo esta perspectiva, el presente estudio se evaluó diversos medios de cultivo con el propósito de encontrar un medio de establecimiento adecuado para la micropropagación in vitro de la especie *Aniba rosaeodora* Ducke (palo rosa) durante la fase de introducción, multiplicación y enraizamiento en el laboratorio de biotecnología del CITE productivo Madre de Dios.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál será el efecto de los medios de cultivo en la micropropagación de *A. rosaeodora* Ducke mediante yemas apicales?

1.2.2. Problemas específicos

PE1. ¿Cuál será el protocolo de asepsia eficiente para la micropropagación de *A. rosaeodora*?

PE2. ¿Cuál será la tasa de supervivencia de las yemas apicales en cada fase de establecimiento en los diferentes tratamientos de sales minerales y niveles de sacarosa de *A. rosaeodora*?

PE3. ¿Cuál será el efecto en la interacción y concentración óptima de los reguladores de crecimiento en la fase de multiplicación y enraizamiento de *A. rosaeodora*?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar el efecto de los medios de cultivo en la micropropagación de la especie *A. rosaeodora* mediante yemas apicales.

1.3.2. Objetivos específicos

- OE1. Establecer el protocolo de asepsia eficientes para la micropropagación de *A. rosaeodora*.
- OE2. Analizar la tasa de supervivencia de las yemas apicales en la fase de establecimiento en los diferentes tratamientos de sales minerales y niveles de sacarosa de *A. rosaeodora*.
- OE3. Determinar la interacción y concentración óptima de los reguladores de crecimiento en la fase de multiplicación y enraizamiento de *A. rosaeodora*.

1.4. Variables

1.4.1. Variable dependiente

- Yemas apicales de *A. rosaeodora in vitro* (% de supervivencia, % de contaminación, número de brotes, número de hojas y viabilidad)

1.4.2. Variables independientes

- Medios de cultivo (sales minerales, fuente de carbón y fitohormonas).

1.5. Operacionalización de variables

Tabla 1*Operacionalización de variables para el presente estudio*

Variables	Variable	Definición operacional	Tipo de variable	Dimensiones			Indicadores
Independientes	Concentración de sales minerales: Murashige & Skoog	Son sales de macro y micro nutrientes que contienen potasio, calcio, fosforo etc (Murashige 1974)	Cualitativo	50%			%
				100%			%
	Nivel de sacarosa	Es una fuente de carbono esencial para los cultivos <i>in vitro</i> (Roca y Mroginski 1991).	Cualitativo	20gr 30gr 40gr			Gr Gr Gr
Independientes	BAP	Son fitohormonas especializadas en distintos procesos a nivel de las plantas son capaces de dirigir y facilitar la diferenciación celular, el alargamiento y los procedimientos de división (Alcántara cortes et al. 2019).	Cualitativa	1,0	0,5	1,0	Mg/l
	AIB			3,0	1,0	2,0	
	ANA			5,0	1,5	3,0	
Dependientes	Yemas apicales de <i>A. rosaeodora in vitro</i> .	En la introducción en la micropropagación <i>in vitro</i> se centra en establecer condiciones óptimas para el cultivo de explantes seleccionados y en garantizar que estén libres de contaminantes, preparándolos para el posterior desarrollo (Murashige 1974).	Cuantitativa	● % de Supervivencia			%
				● % de Contaminación			%
				● N° de brotes			%
				● Numero de Hojas			N°
				● Viabilidad			N°

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis general.

El uso de los diferentes medios de cultivo en la Micropropagación de *A. rosaeodora*, mediante yemas apicales tienen un efecto positivo, permitiendo su establecimiento y desarrollo.

1.6.2. Hipótesis específicas.

H1: La aplicación de un protocolo de asepsia eficiente reduce significativamente la contaminación de las yemas apicales de *Aniba rosaeodora Ducke* durante la fase de establecimiento in vitro.

H2: Los diferentes tratamientos de sales minerales y niveles de sacarosa influyen significativamente en la tasa de supervivencia de las yemas apicales de *Aniba rosaeodora Ducke* durante la fase de establecimiento in vitro.

H3: La interacción entre las concentraciones de reguladores de crecimiento influye significativamente en la multiplicación de brotes y el enraizamiento de *Aniba rosaeodora Ducke*.

1.7. Justificación

Las contribuciones de los expertos en la materia sirvieron de base para esta investigación. El método es la micropropagación *in vitro* es importante dentro de la preservación y la reproducción de especies vegetales, lo que favorece a la conservación de la diversidad biológica, según afirman Delgado-Paredes et al. (2023). Además, Jones y Soto et al. (2010) sostienen que la mejora de las técnicas de micropropagación y, en particular, la eficacia de las iniciativas de conservación en estudio, dependen del conocimiento de aspectos claves que se involucran con el desarrollo y crecimiento *in vitro* de las especies arbóreas autóctonas.

Respecto a *A. rosaeodora Ducke*, reconocida y valorada por sus características aromáticas y medicinales, el estudio de Cortes, Pérez Mg y Rm (2017) destaca que analizar medios de cultivo con el fin de lograr incrementar la eficiencia de la micropropagación. De este modo, se busca asegurar que se realice una producción sostenible de material vegetal que mantenga los rigurosos y elevados estándares de calidad que la normativa solicita.

Este proyecto aportará a las investigaciones actuales el poder analizar de manera específica cómo distintos medios de cultivo influyen en la micropropagación de *A. rosaeodora* en el Perú. Con ello, se pretende aportar conocimientos útiles para proteger esta valiosa especie y, además que puedan ser potencialmente, aplicables a otras especies afines que se encuentren en peligro o posean interés medicinal y económico.

En síntesis, se fundamenta en la importancia urgente de optimizar las técnicas disponibles de micropropagación destinadas a la preservación de especies nativas como *A. rosaeodora*. Es importante mencionar que esta indagación valida la postura de diversos especialistas que resaltan la relevancia en aplicar y seguir desarrollando información que puedan dirigir los esfuerzos para la protección de la biodiversidad y el impulso de la sostenibilidad.

1.8. Consideraciones éticas

En el marco normativo peruano, es un patrimonio los recursos naturales, y están bajo exclusividad del Estado para su aprovechamiento. Asimismo, el art. 67 establece que se debe promover la utilización sostenible de dichos recursos. Asimismo, el artículo 1 de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre Ley N.º 29763 reconoce que todo ser humano posee el derecho de acceder y hacer uso del patrimonio forestal y de fauna silvestre, siempre que dicho aprovechamiento se realice conforme a las disposiciones establecidas por las autoridades nacionales y regionales competentes. Este acceso tiene como objetivo preservar el patrimonio y sus componentes, siempre en cumplimiento de la legislación vigente.

El artículo 137 de la Constitución considera y posiciona de interés su investigación, el fortalecimiento del conocimiento, el desarrollo tecnológico y el seguimiento de las acciones orientadas a proteger a la vida silvestre y los bosques. Asimismo, el artículo 140 señala la autorización para realizar investigaciones científicas en este campo de estudio corresponde a la autoridad regional de fauna silvestre y forestal. Estas disposiciones legales enfatizan la relevancia de los recursos naturales, garantizando la conservación y el respeto a la legislación pertinente.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

Antecedentes internacionales

Jardim et al. (2010) establecieron un protocolo para generar de manera *in vitro* *Aniba rosaeodora* Ducke (palo rosa) utilizando brotes apicales y segmentos nodales en diversas concentraciones de reguladores de crecimiento en Brasil. Se cultivaron empleando medio MS1 enriquecido con 30g. L⁻¹ de sacarosa y 9g. L⁻¹ de agar, complementado con 2,4-D, AIA, ANA y BAP (0,0 y 4,0 mg.L⁻¹), junto con las combinaciones necesarias para el ensayo de inducción, brote, raíz y callos. Asimismo, realizaron el esquema factorial de 7 x 2 con 14 tratamientos y 15 repeticiones. Después de 90 días detectaron la presencia de las auxinas donde fue fundamental para los parámetros inducidos con el medio de cultivo que contiene 4,0 mg.L⁻¹ de BAP + 6,0 mg.L⁻¹ de AIA presenta un mejor medio para brotes con 2,13 brotes/explante, para el enraizamiento usaron 3,0 mg.L⁻¹ de ANA donde esta fue la más eficiente, presentando una media de 2,53 raíces/explante, en relación a la callosidad usaron 4,0 mg.L⁻¹ de BAP + 6,0 mg.L⁻¹ de 2,4-D, donde presento la mejor medida de 1,67 callos/explante.

Handa, Sampaio de tarso y Quisen caetano (2005) en este trabajo desarrollaron técnicas de asepsia para la micropropagación *in vitro* de embriones y yemas apicales de *Aniba rosaeodora* Ducke (palo rosa), para el tratamiento de asepsia de los embriones y yemas de plántulas usaron dos antibióticos (Ampicilina y Agrimicina) etanol un 70% e hipoclorito de sodio, para el tratamiento de la oxidación introdujeron a la inmersión en PVP (Polivinilpirrolidona) y ácido ascórbico (250 mg/l) en el tratamiento de medio Murashige & Skoog (MS), los medios de cultivo que se usaron para estimular la germinación en Murashige & Skoog (1962), con pH ajustado de 6,2 y

además sacarosa (0, 5, 10 e 15%), agua de coco (0, 10, 20 ml), 1,8 g/l de phytigel y 0,5 g/l de antioxidante Polivinilpirrolidona (PVP), se realizaron 12 tratamientos con 10 repeticiones por tratamiento, fueron sometido a la comparación de media de análisis de ANOVA. en el tratamiento de hipoclorito de sodio (50% y 2%) tuvieron una supervivencia del 71% y una germinación del 53%, en hipoclorito sódico (50% y 2% de cloro activo) durante 10 minutos y se inocularon en medio MS que contenía 20 mg/l de agua de coco al cabo de 45 días, los rebrotes de la plántula tratadas con una solución de sulfato de estreptomicina (Agrimycin) a una concentración de 500 mg/l (1h) mostraron una supervivencia del 51% y por último el tratamiento previo utilizando una bomba de vacío (180 mmHg) conteniendo Agrimycin (500 mg/l), mostraron una supervivencia del 25%, podemos decir que el tratamiento de estreptomicina (Agrimycin) es el mejor para el tratamiento libre de contaminación y supervivencia en los brotes apicales.

De-Souza et al. (2022) analizaron el cultivo in vitro de *Humulus lupulus*, se buscó caracterizar las respuestas de diferentes genotipos bajo el efecto de distintos reguladores de crecimiento. Investigaron el impacto de las combinaciones de BAP, AIA y AG₃ en el desarrollo de lúpulo, centrándose en genotipos de origen americano (Chinook y Columbus) y europeo (Hallertauer M). Emplearon un diseño experimental aleatorizado de 6×3 (seis medios de cultivo y tres genotipos) para evaluar el crecimiento radicular, el número de segmentos nodales, el número de brotes y la altura de los brotes. Realizaron procedimientos de asepsia y cultivo en cámara de crecimiento in vitro, ajustando la distribución de residuos mediante el uso de covariables para mejorar el modelo estadístico. El análisis estadístico realizó a través de Glimmix y análisis de trazados de caminos. Se observaron que los genotipos de origen americano, Chinook y Columbus, mostraron un desarrollo radicular óptimo con la combinación de AIA (0,02 mg L⁻¹) y BAP (1,0 mg L⁻¹). En contraste, el genotipo europeo Hallertauer M. presentó un desarrollo desfavorable en cultivos con combinaciones de reguladores de crecimiento. Asimismo, en el estudio se evidenció una asociación significativa entre la

cantidad de brotes y el número de segmentos nodales, lo que pone de manifiesto su alto potencial para la multiplicación *in vitro* de clones.

Baloch et al. (2022) analizaron la diversidad genética y estructura poblacional del palo de rosa peruano (*Aniba rosaeodora Ducke*) utilizando marcadores de retrotransposones iPBS, representando un avance significativo en la evaluación de la variabilidad genética de esta especie importante tanto económicamente como ecológicamente. A diferencia de investigaciones previas que se centraron en otros tipos de marcadores, este estudio marca la primera vez que se aplican marcadores de retrotransposones iPBS en el palo de rosa peruano, demostrando su efectividad y robustez, como se ha visto en estudios similares en otras plantas, implementando conservación *in situ* y *ex situ* para preservar esta diversidad genética. Además, los hallazgos de este estudio ofrecen información valiosa para futuros programas de mejoramiento genético y conservación del palo de rosa peruano, contribuyendo así a su uso sostenible y conservación a largo plazo.

Lencina et al. (2020) tuvieron como objetivo integrar fragmentos nodales y el desarrollo radicular *in vitro* de *Apuleia leiocarpa*, la cual es denominada grápia. Su finalidad fue conocer distintos tratamientos de desinfección que contribuyeran en la incorporación eficiente de segmentos nodales, por lo que evaluaron auxinas y concentraciones a fin de lograr el desarrollo radicular *in vitro* y de explantes. De igual manera, la adición de fragmentos nodales de grápia repercutió en que la desinfección óptima consistía en utilizar hipoclorito de sodio en 2.5% de cloro en un tiempo de 5 minutos, lo cual permitía elevar la tasa de brotación y supervivencia. Como resultado tras utilizar un diseño factorial de 5 x 3 obtuvo que los fragmentos nodales de grápia responden de manera aceptable al NAA para el enraizamiento *in vitro*, asimismo, se identificó que una producción de callos es aceptable en los tratamientos con auxina, lo que demuestra una correlación entre los callos y que se forme raíces en la especie analizada.

Antecedentes nacionales

Kometter (2019) diagnóstico sobre la situación de la especie palo rosa, con el propósito de sustentar futuras investigaciones orientadas a la conservación de dicha especie en la región Ucayali, Perú. Para tal fin, se efectuó un examen minucioso de la documentación emitida por CITES, de los informes de entidades especializadas, de la información proveniente de empresas privadas y de los datos proporcionados por el Ministerio del Ambiente (MINAM). Este trabajo implicó la revisión y sistematización de fuentes secundarias, así como la obtención de información primaria mediante correos electrónicos y entrevistas, la cual fue posteriormente organizada y analizada. En el tratamiento de los datos se recurrió a la construcción de tablas y a procedimientos estadísticos con el propósito de evaluar los recursos naturales, la biología de la especie, el marco regulatorio y otras variables pertinentes. Los hallazgos evidenciaron que las poblaciones silvestres de palo rosa en el Perú se encuentran bajo amenaza, en concordancia con lo señalado en el Decreto Supremo N.º 043-2006-AG. Además, se constató una marcada disminución en el diámetro de los árboles adultos en las zonas de Ucayali y Loreto, situación que compromete la viabilidad de la especie según los reportes del MINAM. No obstante, se registraron iniciativas de establecimiento de plantaciones, particularmente en Loreto, que han mostrado resultados alentadores en términos de regeneración.

Fernández Silva (2023) evaluó el enraizamiento y la propagación vegetativa de *Aniba rosaeodora* en la zona de Puerto Bermúdez, centrando el análisis en la respuesta de las estaquillas a diferentes concentraciones de Ácido Indolbutírico (AIB), en el tipo de sección empleada y en otros factores asociados. La investigación adoptó un enfoque experimental: las estaquillas de *A. rosaeodora* Ducke se dividieron en tres categorías (apicales, medias y basales) y se sometieron a cuatro tratamientos hormonales con AIB (8000, 4000, 2000 ppm y un tratamiento control sin AIB). El material vegetal se dispuso en una cámara de enraizamiento, donde se realizó un monitoreo sistemático durante 64 días. A lo largo de este periodo se registraron la longitud promedio de las raíces, el número medio de raíces por estaquilla y el

porcentaje de enraizamiento. Para el análisis de los datos se emplearon técnicas estadísticas, entre ellas ANOVA y pruebas post hoc de Bonferroni. En función de los resultados, se determinó que, bajo las condiciones ambientales de la localidad estudiada, la alternativa más eficaz para la propagación vegetativa del palo rosa o *Aniba rosaeodora* corresponde al uso de estaquillas basales tratadas con 4000 ppm de AIB.

Herrera (2022) examinó la repercusión inductiva de 3 tipos y niveles de citoquininas en el desarrollo de brotes de segmentos nodales de palo de rosa en un entorno in vitro. Se emplearon secciones vegetativas junto con un medio de cultivo M&S enriquecido mediante distintos tratamientos. Estos tratamientos fueron organizados al azar dentro de un diseño completamente randomizado con un arreglo factorial de 3A (Fuentes) x 3B (Concentraciones) más un grupo control. En total, se realizaron 10 tratamientos, cada uno con 8 repeticiones. Los hallazgos revelaron que los tratamientos 5 y 6 presentaron la mayor cantidad de brotes y una longitud promedio de brote significativa (8,41 mm y 6,13 mm). Además, el tratamiento 9 evidenció un incremento significativo en la generación de callos, alcanzando un promedio de 1,2 callos. Se concluyó que la citoquinina BAP mostró una mayor capacidad para inducir el crecimiento de brotes.

Campos et al. (2020) establecieron una metodología para la desinfección y micropropagación in vitro de *Swietenia macrophylla* King (caoba) en la zona de Trujillo (Perú). La desinfección de los segmentos nodales se llevó a cabo utilizando concentraciones del 3 % de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ y NaClO , con tiempos de exposición de 10, 15 y 20 minutos para cada tratamiento. Los explantes supervivientes se transfirieron a un medio de cultivo basal que incluía hidroponía, LM, WPM y MS, para su posterior desarrollo. En la fase de multiplicación, los segmentos se sometieron a ANA en concentraciones de 0,1 y 0,5 mg/l, y a BAP en concentraciones de 0,1, 0,5 y 1 mg/l. Los brotes óptimos para la fase de enraizamiento se generaron en medio WPM, utilizando dosis variables de ANA (1 y 2 mg/l) y BAP (0,5 y 1 mg/l). Los resultados indicaron que las porciones nodales tratadas con una solución de NaOCl al 3 % durante 15 minutos tuvieron la mejor tasa de supervivencia, que alcanzó el 87 %.

Durante la fase de crecimiento, el WPM se identificó como el medio de cultivo más eficaz, con una longitud media de los brotes de 7,20 mm. En la fase de multiplicación, una concentración de 1 mg/l de BAP dio lugar a una longitud media de los brotes de 8 mm; sin embargo, en la fase de enraizamiento, el tratamiento con 1 mg/l de ANA produjo el máximo número de raíces a los 50 días.

Navarro (2001) investigó el medio de cultivo óptimo para la generación de callos diferenciados o plántulas a partir de yemas de *Cedrelinga cateniformis* Ducke (tornillo), centrándose en la concentración de reguladores de crecimiento (citoquinina-auxinas, inositol y agua de coco). Se recolectaron yemas apicales de plántulas de 7 a 9 meses de edad, y se aplicaron tres tipos de tratamiento, cada uno con cinco repeticiones para cada fase del estudio, siguiendo un diseño experimental con la prueba de ANOVA. Los siguientes tratamientos fueron implementados: T3 (3% de sacarosa + 0,05 gramos de inositol + 100 ml de agua de coco + 0,5% de agar); T2 (3% de sacarosa + 0,1 gramos de inositol + 0,05 gramos de BAP + 0,8% de agar); y T1 (3% de sacarosa + 0,05 gramos de ANA + 0,05 gramos de BAP + 0,6% de agar). Se registraron variaciones significativas entre los distintos tratamientos. El tratamiento T1 presentó los resultados más favorables con un incremento notable en la proliferación celular. No obstante, no se observó formación de brotes ni enraizamiento, lo que podría deberse a una dosis inadecuada de AIA.

Antecedentes regionales

Rafael (2022) analizó el efecto de tres variantes, correspondientes a dos concentraciones de sales minerales y una de sacarosa, en la propagación in vitro de castañas. Para ello, empleó yemas apicales de plántulas de seis meses de edad. En la fase de establecimiento se utilizó el medio de cultivo WPM, complementado con las reguladoras de crecimiento ANA y BAP, además de agar como agente gelificante. Durante la etapa de multiplicación, al examinarse el efecto de las distintas concentraciones de sales mediante el método WPM, en combinación con agar y sacarosa, los resultados

evidenciaron que el uso del 100 % de WPM favoreció un crecimiento superior de los explantes, mientras que la sacarosa a una concentración de 30 g/L incidió de manera significativa en el incremento de la altura y en el desarrollo de los nudos.

2.2. Marco teórico

2.2.1. Descripción taxonómica de la especie

Aniba rosaeodora Ducke, conocida comúnmente como palo rosa, es una especie arbórea perteneciente a la familia Lauraceae, nativa de la región norte de Sudamérica y distribuida principalmente en bosques tropicales húmedos de la Amazonía desde el norte de Sudamérica hasta el norte del Perú (Teles et al., 2020). Esta especie presenta la siguiente descripción taxonómica de acuerdo con el Jardín botánico Missouri (2024):

Descripción taxonómica:

Reino: Plantae

Familia: Lauraceae

Género: *Aniba* Aubl

Especie: *Aniba rosaeodora* Ducke

Nombre común: Paurosa, palo rosa y palo de rosa.

Fuente: Jardín botánico Missouri (2024)

2.2.2. Distribución geográfica

Colombia (Amazonas); Venezuela (Amazonas, Trujillo); Guyana; Surinam; French Guiana; Ecuador; Perú; N-Brazil (Amapa, Pará, Amazonas) (Hassler 2020). Es típica de áreas abiertas dentro de la selva y se encuentra principalmente en suelos arcillosos. En Perú, se distribuye de forma natural en los departamentos de Ucayali, Amazonas y Loreto. Además, puede ser encontrada en otras regiones donde ha sido introducida o cultivada, especialmente en Loreto (Rengifo y Campos, 2007).

2.2.3. Descripción botánica

Salgado (2007) indica que *A. rosaeodora* es el árbol que alcanza una altura aproximada de 30 metros con un diámetro de unos dos metros. Su tronco se presenta recto y cilíndrico, con una corteza de tonalidades amarillo-castaño que se desprende en forma de grandes hojuelas, emitiendo un aroma en todas sus partes. Las hojas, dispuestas a lo largo de las ramas más pequeñas, son coriáceas y generalmente miden entre 4 y 5 centímetros de ancho, con bordes lisos y un ápice acuminado. Las nervaduras secundarias se ramifican desde la nervadura primaria con un ángulo de divergencia de 45-60°.

La especie conocida como palo rosa es originaria de la Amazonia y exhibe un significativo potencial económico derivado de la extracción del linalol. Este compuesto se obtiene del aceite esencial presente en todas las partes del árbol, incluyendo las hojas, flores y madera. El linalol es un componente muy solicitado en la industria de la perfumería, donde se utiliza como fijador (Sampaio, Parente y Noda, 1989).

2.2.4. Propagación vegetativa

La propagación vegetativa consiste en efectuar su multiplicación asexual que es mediante propagación por estacas o por injerto, donde la planta presenta tres aspectos diferentes, las manipulaciones mecánicas y procedimiento técnico cuyo dominio requiere de cierta práctica y experiencia (Hartmann y Kester, 1997).

2.2.5. Micropropagación vegetal

Según la definición de Roca y Mroginski (1992), se refiere a una técnica aséptica que implica la manipulación de células, tejidos, órganos o plantas con el propósito de generar nuevas plántulas que sean idénticas, tanto fenotípica como genéticamente, a la planta madre.

De acuerdo con Roca y Ramírez (2000), una de las grandes fortalezas de la reproducción vegetativa es mediante el cultivo de tejidos, es la habilidad de obtener una gran cantidad de plantas en un corto periodo y en un área

reducida. Esta ventaja económica se hace más evidente al contrastarla con los métodos tradicionales de propagación sin semillas.

Etapas de micropropagación

De acuerdo con Murashige (1974), el proceso de micropropagación comprende las siguientes etapas sucesivas:

Etapa 0: Producción en vivero. Tiene por finalidad asegurar, mediante un manejo sanitario adecuado, que el material vegetal de partida se encuentre libre de agentes patógenos, de modo que las plantas presenten un crecimiento vigoroso y no exhiban síntomas de enfermedad antes de ser utilizadas como explantes.

Etapa 1: Inicio. Comprende la selección y aplicación del protocolo de desinfección más apropiado, así como la incorporación de los explantes en un medio de establecimiento, buscando alcanzar altas tasas de supervivencia.

Etapa 2: Multiplicación de brotes. En esta fase se promueve la rápida generación de brotes, procurando mantener la estabilidad y fidelidad genética del material propagado.

Etapa 3: Enraizamiento y elongación. Corresponde al periodo en el que se favorece el alargamiento de los brotes y la formación de raíces, con el objetivo de obtener plántulas vigorosas y aptas para su posterior aclimatación.

Etapa 4: Aclimatación de in vitro a ex vitro. Incluye la preparación progresiva de las plantas obtenidas in vitro para su adaptación a condiciones ambientales externas controladas, garantizando su sobrevivencia y crecimiento fuera del sistema de cultivo in vitro.

2.2.6. Cultivo de tejidos vegetales

Roca y Mroginski (1991) expusieron un método que utilizaron para la separación de células de plantas, tejidos u órganos en un entorno estéril. Este procedimiento se realiza en un medio de cultivo diseñado y en condiciones de incubación reguladas. La técnica se fundamenta en la producción de diversas muestras a partir de una sección del tejido de una planta madre, lo que posibilita el cultivo de cantidades considerables de plantas idénticas, exentas de gérmenes y que pueden llevarse a cabo en cualquier época del año.

Según Roca y Ramírez (2000), se señala que la habilidad de las células de las plantas para exhibir totipotencia al ser cultivadas en vitro fue determinada por Steward y su equipo en mil novecientos cincuenta y ocho. Un trozo de tejido, conocido como explante, es cultivado de forma estéril en un medio particular y en circunstancias adecuadas.

2.2.7. Tipos de micropropagación

Las plantas superiores exhiben la capacidad de reproducirse tanto de manera sexual como asexual, dependiendo de su nivel evolutivo. En el proceso de propagación sexual, las nuevas plantas se generan mediante la fusión de gametos parentales, dando lugar a embriones (semillas) que representan una combinación genética única y, por ende, son genéticamente distintos de sus progenitores. Por contraste, la reproducción asexual consiste la formación de nuevas plantas a partir de células somáticas, resultando en una composición genética idéntica, y estas plantas se conocen como clones (Hartmann y Kester 1997).

Según Roca y Mroginski (1991) indican que la embriogénesis somática implica la formación de un embrión sin la necesidad de la unión o fertilización de gametos. Se distingue entre la embriogénesis somática directa e indirecta, fenómenos que ocurren con regularidad en la naturaleza. Este proceso, la embriogénesis somática, ofrece beneficios significativos para la propagación masiva de plantas. Mediante esta técnica, es posible generar cantidades industriales de cultivos y desarrollar semillas especializadas. A diferencia de la embriogénesis, la organogénesis implica la obtención de tallos, raíces o flores a través de yemas, generando nuevos brotes. Este proceso puede ser directo, surgiendo desde el explante, o indirecto, originándose a partir de callos, ambos requiriendo medios de cultivo. Tanto mediante organogénesis como embriogénesis en la micropropagación, se logra la obtención de plántulas.

2.2.8. Propagación in vitro

Martínez et al., (2010) indican sobre, la propagación in vitro es un método que implica tomar una porción de una planta y colocarla en un entorno de cultivo estéril, donde se propiciará su desarrollo. Este enfoque específico, aplicado a especies tropicales, ofrece la posibilidad de mantener y multiplicar de manera controlada material vegetal determinado. Además, añade nuevas dimensiones a las prácticas tradicionales de silvicultura, permitiendo lograr dos objetivos esenciales en la gestión forestal: utilizar los recursos para mejorar genéticamente las especies y conservar la diversidad de los bosques nativos.

2.2.9. Medios de cultivo

Se les conoce como elementos macro y micronutrientes, que incluyen una variedad de componentes, tales como sales minerales, carbohidratos (como la sacarosa), vitaminas, aminoácidos y reguladores del crecimiento. Estos últimos son sustancias químicas encargadas de supervisar el desarrollo de tejidos y células. Además, el medio puede contener sustancias gelificantes que solidifican el entorno en forma de gel como el agar, proporcionando un soporte físico para el crecimiento de las plantas (Martínez et al. 2010).

2.2.10. Reguladores de crecimiento

- **Auxinas**

Son fitohormonas especializadas en distintos procesos a nivel de las plantas son capaces de dirigir y facilitar la diferenciación celular, el alargamiento y los procedimientos de división. Entre las auxinas más reconocidas se halla la AIA, que se produce de forma natural, así como otras de origen sintético como el IBA, 2,4-D y NAA (Alcantara cortes et al. 2019).

Roca y Mroginski (1991) señalan que poseen una notable capacidad para promover el crecimiento y la extensión celular. Entre las auxinas naturales se encuentran la AIA, el etilindo-3-acetato, el ácido indol-3-propiónico y el indol-3-acetonitrilo, mientras que las auxinas artificiales incluyen el 2,4-D, ANA y AIB.

- **Citoquininas**

Poseen la capacidad de favorecer una intensa multiplicación y división de las células, fomentando tanto el comienzo como el alargamiento de las raíces. Adicionalmente, pueden provocar el envejecimiento de las hojas, lo que impulsa el crecimiento foto-morfogénico de la planta y es fundamental en el aumento y formación de brotes a nivel vegetal (Alcántara et al. 2019).

- **Vitaminas**

Roca y Mroginski (1991) explican que no es completamente esencial incorporar vitaminas como el colina, riboflavina, biotina y ácido pantoténico. Sin embargo, resulta crucial añadir vitaminas como la tiamina, piridoxina y ácido nicotínico hasta que los cultivos hayan alcanzado la fase de desarrollo o se hayan vuelto verdes.

- **Ácido giberilico (GA3)**

Es un ácido necesario para alargar los segmentos nodales, debido a que contribuye en la estimulación durante la elongación en células, tanto en escenarios de oscuridad y luz. Además, cumple un rol crucial en la iniciación de la floración, siendo de suma importancia para la fertilidad de las plantas tanto masculinas como femeninas (Alcantara cortes et al. 2019).

2.2.11. Fuentes de carbono

Los cultivos de micropropagación, al ser autótrofos, necesitan fuentes de carbono, lo cual es esencial. La sacarosa, en rangos de concentración entre el 2% y el 5%, representa el azúcar más comúnmente empleado y puede ser reemplazada por glucosa, aunque en menor medida por fructosa. En líneas generales, la galactosa y la maltosa son menos eficaces para este propósito (Roca y Mroginski 1991).

La baja iluminación en las salas de desarrollo destinadas a la fotosíntesis in vitro limita significativamente la productividad de energía y carbohidratos. Por lo tanto, para facilitar un leve desarrollo heterotrófico, se agrega sacarosa al medio de cultivo, según (Taylor et al. 1995). Sin embargo, no se garantiza que se fructifique.

2.2.12. La Asepsia

Roca y Mroginski (1991) señalan que la combinación explante-medio y las condiciones físicas de incubación generan un entorno propicio para el crecimiento de microorganismos, bacterias y hongos. Estos microorganismos tienen el potencial de causar daño a los cultivos al competir con el explante por los nutrientes del medio o al modificarlo. Prevenir la contaminación microbiana es esencial para garantizar el éxito no solo en la fase inicial de los cultivos, sino también durante su subsiguiente manipulación e incubación.

2.2.13. Factores externos del cultivo

a) La temperatura

En el desarrollo de cultivos in vitro se establece una temperatura óptima puede requerir un enfoque constante. En donde mayormente, se pueden lograr resultados destacados manteniendo temperaturas de incubación entre 20 y 28°C.

b) El fotoperiodo

El desarrollo de las plantas puede ser favorecido por la duración de la exposición a la luz, al igual que la proliferación de explantes cultivados in vitro puede ser afectada negativamente por la cantidad de luz que reciben.

c) La intensidad de luz

La forma en que la luz incide tiene un impacto directo en la apariencia de las plantas, y estos requisitos varían según el tipo de planta y su fase en el proceso de micropropagación. Dos factores clave que contribuyen al desarrollo de las plantas son la densidad y el espectro del flujo de fotones (Rizzo 2020).

2.3. Definición de términos

De bartolini y Lallana (1995) hacen referencia a los vocablos habitualmente empleados en los cultivos realizados in vitro.

- **Asepsia:** Ausencia de infección o presencia de microorganismos contaminantes.

- **Inducción:** Comienzo de una estructura, órgano o proceso en un ambiente controlado.
- **Brotes:** Tejido no diferenciado, que se localiza dentro del brote superior, en muchos casos se observa como una estructura luminosa lejos del punto de inicio foliar, además tiene una longitud inferior a 0.1 mm al ser extraído.
- **Termoterapia:** Consiste en someter a la planta afectada por un virus a temperaturas inusualmente altas durante un período específico, de manera que el calor desactive el virus sin causar la inactivación total de la planta.
- **Explante:** Tejido que se extrae de su lugar de origen y se coloca en un entorno artificial para su preservación o desarrollo.
- **Micropropagación:** Reproducción clonal en condiciones controladas de plantas a partir de fragmentos nodales o brotes terminales, con un aumento notable en la producción de brotes durante los subcultivos.
- **Subcultivo:** En el cultivo de plantas, se refiere al método donde el tejido o fragmento se divide en partes más pequeñas y luego se coloca en un nuevo medio de cultivo.
- **Regeneración:** En el cultivo de plantas, se manifiesta como una respuesta morfológica a ciertos estímulos, produciendo brotes, embriones o plantas completas.
- **Totipotente:** Una propiedad celular que permite la capacidad de generar todos los tipos de células del organismo maduro.

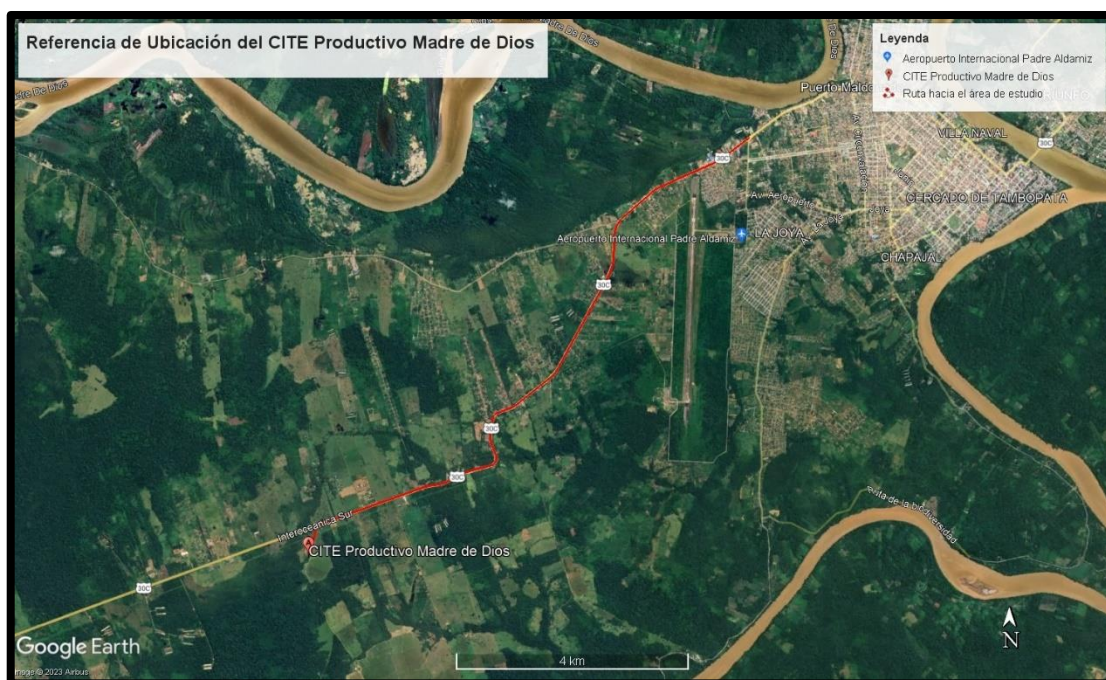
CAPITULO III: METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. Lugar de estudio

El estudio se ejecutó en instalaciones del laboratorio de micropropagación de plantas, que está en la instalación del CITE productivo Madre de Dios, ubicada en el kilómetro 16,5 de la vía Puerto Maldonado – Cusco, en el distrito y provincia de Tambopata, en el departamento de Madre de Dios. Las coordenadas exactas fueron 19 grados de latitud Este, 0478905, y 8 grados de longitud Norte, 8607585.

Figura 1

Referencia de ubicación del laboratorio



Nota. Obtenido de Google Earth, 2025. <https://maps.app.goo.gl/WrWDZgXHmr127jzK9>.

3.2. Tipo de estudio

Según Hernández-Sampieri (2018) la investigación adopta un nivel explicativo de tipo aplicada, porque consistió en establecer el mejor medio de cultivo en la micropropagación de *A. rosaeodora*.

3.3. Diseño de estudio

Según Ruiz y Valenzuela (2022), el diseño experimental permite evaluar el efecto de una o más variables independientes sobre una variable de respuesta, bajo condiciones controladas y previamente definidas. En ese sentido, la presente investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, con diseño experimental y alcance longitudinal, debido a que se evaluó la respuesta de las yemas apicales de *Aniba rosaeodora* Ducke frente a diferentes medios de cultivo durante las fases de introducción, establecimiento, multiplicación, enraizamiento y elongación.

Para la fase de introducción y establecimiento se empleó como diseño estadístico el Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con arreglo factorial 2×3 , considerando dos factores de estudio. El primer factor correspondió a la concentración de sales minerales del medio Murashige y Skoog, con dos niveles: 50 % y 100 %. El segundo factor correspondió a los niveles de sacarosa, con tres concentraciones: 20 g/L, 30 g/L y 40 g/L. La combinación de ambos factores permitió obtener seis tratamientos experimentales, a los cuales se añadió un tratamiento testigo, alcanzando un total de siete tratamientos.

Tabla 2

Diferentes combinaciones de los factores de estudio

	Factor 1 (Concentración de Murashige & Skoog)	Factor 2 Nivel de Sucrose	Combinación	Tratamientos
a1		b1	a1b1	1
		b2	a1b2	2
		b3	a1b3	3
		b1	a2b1	4

a2	b2	a2b2	5
	b3	a2b3	6
Testigo	-	-	7

Nota. Elaboración propia.

En la fase de multiplicación se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento sobre la respuesta morfogénica de los explantes de *Aniba rosaeodora* Ducke previamente establecidos. Para ello, se consideró como factor de estudio la combinación de BAP y AIB, donde los tratamientos incluyeron tres combinaciones hormonales y un tratamiento testigo sin reguladores de crecimiento, con la finalidad de comparar la respuesta de los explantes frente a distintos niveles de estimulación hormonal.

Tabla 3

Combinaciones de los tratamientos con los reguladores de crecimiento

Tratamiento	Reguladores De Crecimiento (factor 3)	
	BAP (Mg/ L)	AIB (Mg/L)
T1	1,0	0,5
T2	3,0	1,0
T3	5,0	1,5
Testigo	-	-

Nota. Elaboración propia.

En la fase de enraizamiento y elongación se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de auxina sobre el desarrollo radicular y el crecimiento de los explantes de *Aniba rosaeodora* Ducke provenientes de la fase de multiplicación. Para ello, se empleó ácido naftalenacético (ANA) como regulador de crecimiento, debido a su función en la inducción y formación de raíces en cultivos in vitro. Los tratamientos incluyeron tres concentraciones de ANA y un tratamiento testigo sin auxina, con la finalidad de comparar la respuesta de los explantes frente a distintos niveles hormonales y determinar la concentración más adecuada para favorecer el enraizamiento y la elongación.

Tabla 4

Combinación de los tratamientos de multiplicación y auxina para el enraizamiento.

Tratamiento	Auxina (factor 4) ANA (Mg/ L)
T1	1,0
T2	2,0
T3	3,0
testigo	--

Nota. Elaboración propia.

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

La población estuvo conformada por 300 plántones de *Aniba rosaeodora* Ducke, mantenidos bajo condiciones de invernadero en el Centro de Innovación Productiva y Transferencia Tecnológica (CITE Productivo) en Madre de Dios. A partir de estos individuos se seleccionaron los explantes correspondientes a yemas apicales, los cuales fueron utilizados como material vegetal inicial para el desarrollo del experimento de micropropagación in vitro.

3.4.2. Muestra

La muestra inicial estuvo constituida por 210 yemas apicales de *Aniba rosaeodora* Ducke, seleccionadas a partir de plántulas mantenidas en buen estado fisiológico y sanitario en el invernadero del CITE Productivo – MDD. La selección de los explantes se realizó mediante un muestreo no probabilístico intencional, considerando yemas apicales sanas, vigorosas, sin daños mecánicos visibles y sin signos externos de contaminación o deterioro, debido a que la micropropagación requiere material vegetal viable para su establecimiento bajo condiciones estériles.

El tamaño de la muestra se determinó a partir de la estructura del diseño experimental correspondiente a la fase de introducción y establecimiento. En esta etapa se evaluaron dos factores: la concentración de sales de Murashige y Skoog, con dos niveles, 50 % y 100 %, y la concentración de sacarosa, con tres niveles, 20 g/L, 30 g/L y 40 g/L. La combinación de estos factores generó seis tratamientos experimentales, a los cuales se añadió un tratamiento testigo, obteniéndose un total de seis tratamientos y un testigo. Cada tratamiento contó con tres repeticiones y cada repetición estuvo conformada por diez yemas apicales, aplicándose la fórmula:

$$N = [(A \times B) + T] \times R \times U$$

Donde:

N = número total de unidades experimentales

A = niveles del factor concentración de sales Murashige y Skoog

B = niveles del factor sacarosa

T = tratamiento testigo

R = número de repeticiones

U = número de yemas apicales por repetición

3.5. Métodos y técnicas

3.5.1. Fase de invernadero

a) Selección de plántulas de *A. rosaeodora*.

Las plantas madre de *Aniba rosaeodora* Ducke fueron seleccionadas del invernadero del CITE Productivo – MDD, considerando como criterios de inclusión su buen estado fisiológico y sanitario, una altura aproximada de 15 a 30 cm y una edad entre 4 y 6 meses.

b) Tratamiento en invernadero.

Al elegir las plantas madre o de donación, se conservaron en un invernadero, empleando un tratamiento específico que incluía fungicida benomyl a razón

de 2 gramos por litro y fertilizante foliar, el cual se aplicó semanalmente durante un periodo de un mes, con el objetivo de reducir la carga de microorganismos.

c) Colecta de explantes (Yemas apicales)

Se llevó a cabo en las primeras horas del día en las plantas elegidas en el invernadero CITE productivo - MDD. Los utensilios de corte se desinfectaron al 70% con alcohol tras cada uso y se utilizó el equipo apropiado para minimizar incluso la más pequeña contaminación del explante. Para cortar los explantes, se utilizaron pinzas y tijeras, manteniendo un ángulo de 45° en relación con el eje horizontal.

d) Transporte de explantes.

Las muestras que fueron recogidas se guardaron en botellas etiquetadas, para luego ser transportadas al laboratorio lo más rápido posible con el objetivo de mantener su calidad

3.5.2. Fase laboratorio

a) preparación de medio cultivo

De acuerdo con el INIA (2019), la correcta determinación de la composición del medio de cultivo constituye un requisito esencial para el cultivo in vitro, por cuanto proporciona el soporte básico para el desarrollo de las plantas. Seguidamente, se detalla el procedimiento seguido para su elaboración.

En un cilindro aforado se midió un volumen de 1000 mL de agua purificada; de este volumen, se vertieron cerca de 700 mL en un vaso de precipitados, el cual se colocó sobre un agitador magnético con el fin de favorecer la disolución. Posteriormente, se incorporaron los componentes del medio de cultivo, previamente pesados en una balanza analítica, manteniendo la agitación constante hasta lograr la completa homogeneización de los solutos.

Luego, se completó el volumen final hasta 1000 mL y se reguló el pH a 5,7 empleando soluciones de HCl y NaOH. Se añadieron 6 g de agar como agente

gelificante y la mezcla se calentó en horno microondas durante 11 minutos, asegurando así su total disolución. Después, se distribuyeron 5 mL de la preparación en tubos de ensayo n.º 25 (25 × 250 mm), los cuales se colaron con tapas plásticas. El medio fue esterilizado en autoclave a 121 °C durante 15 minutos a una presión de 1 atm. Finalmente, los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se conservaron en refrigeración hasta su utilización.

b) desinfección del explante de *A. rosaeodora*

Con base en el protocolo adaptado de Rafael (2022), se establecieron tres etapas de desinfección para definir el procedimiento inicial que se aplicó de manera uniforme a todos los explantes. En total se trabajó con 60 explantes, con el propósito de identificar el tratamiento de desinfección más adecuado. Las fases se desarrollaron de la siguiente manera:

- Fase 1: esta etapa se desarrolló fuera de la cabina de flujo laminar. Los explantes fueron colocados en una solución de agua con jabón y se mantuvieron bajo agitación constante durante 10 minutos. Luego, se efectuaron tres enjuagues sucesivos con agua de la llave y un enjuague final con agua esterilizada, con el propósito de eliminar completamente los restos de detergente.
- Fase 2: los explantes se introdujeron en una solución de benomyl durante un intervalo de 1 a 2 horas. Concluido el tiempo de exposición, se procedió a realizar tres lavados con agua destilada, a fin de retirar el exceso de fungicida adherido al material vegetal.
- Fase 3: esta fase tuvo lugar dentro de la cabina de flujo laminar. Los explantes fueron expuestos a soluciones de hipoclorito de sodio (NaClO) en concentraciones de 2 %, 1,5 % y 1 %, manteniéndolos en agitación continua durante 20, 15 y 10 minutos, respectivamente. Una vez completado el proceso de desinfección, se efectuaron cuatro enjuagues consecutivos con agua destilada estéril, con tiempos de 4, 3, 2 y 1 minuto, en ese orden, con la finalidad de eliminar cualquier remanente del agente desinfectante.

c) Introducción o establecimiento de explantes de *A. rosaeodora*

Conforme a las directrices del INIA (2019), el propósito de esta primera fase es lograr cultivos viables y libres de contaminación, con el fin de asegurar un

adecuado establecimiento de los explantes. Para ello, se requiere implementar rigurosamente las medidas complementarias recomendadas por la institución, entre las cuales se incluyen la desinfección de la cabina de flujo laminar, la limpieza del equipamiento destinado al cultivo in vitro y la utilización de vestimenta apropiada por parte del personal que manipula el material vegetal.

Finalizado el procedimiento de desinfección, los explantes se colocaron sobre papel absorbente con el objetivo de eliminar las partes oxidadas de cada muestra. Seguidamente, se sembraron en tubos de ensayo numerados (25 × 250 mm) que contengan 5 mL de medio de cultivo. Luego, los tubos fueron cubiertos con envoltura plástica y etiquetados de acuerdo con la nomenclatura científica correspondiente. El material vegetal se ubicará en una cámara de cultivo con un régimen de 16 hrs de luz y 8 horas de oscuridad, manteniendo una temperatura de 28 °C y una intensidad luminosa de 2000 lux. Los explantes se conservarán bajo estas condiciones durante un periodo de 30 días, tras el cual se realizó su evaluación correspondiente.

d) Multiplicación de explantes de *A. rosaeodora*.

De acuerdo con lo señalado por el INIA (2019), la finalidad de esta etapa consiste en conservar y aumentar el número de brotes disponibles para los sucesivos ciclos de propagación. Para ello, en la fase de propagación se emplearán explantes previamente establecidos, así como aquellos que presenten brotes foliares con varias hojas desarrolladas. Los explantes se dispondrán sobre papel bond, bajo la campana de flujo laminar, a fin de eliminar las zonas oxidadas antes de su establecimiento en el medio de cultivo.

La inoculación se realizará utilizando tubos de ensayo de 25 × 250 mm, cada uno con un volumen de 5 mL de medio de cultivo. A continuación, los tubos serán cerrados herméticamente con cubiertas plásticas y etiquetados según el código asignado a cada tratamiento. El material vegetal se colocó en una cámara de crecimiento programada con un fotoperiodo de 16 horas de iluminación y 8 horas de oscuridad, manteniendo una temperatura constante de 28 °C y una intensidad lumínica de 2000 lux. Los explantes permanecieron

bajo estas condiciones controladas durante un lapso de dos meses y, transcurrido dicho intervalo, se procederá a su evaluación.

e) Enraizamiento y elongación del explante de *A. rosaeodora*.

La etapa de elongación o alargamiento, según INIA (2019) se enfoca en la formación y el avance de brotes saludables mediante la replicación celular. Para realizar esta etapa de crecimiento, se utilizaron los fragmentos ya establecidos y aquellos que hayan generado brotes con varias hojas en desarrollo. En el área de flujo laminar, se tomaron los fragmentos y se dispondrán sobre papel bond para retirarle las secciones dañadas de cada fragmento. Después, se introducirán en tubos de ensayo con 5 ml de sustrato nutritivo.

Finalmente, se cubrieron los tubos con plástico de cocina y se etiquetaron. Los tubos que tienen muestras de plantas serán llevados a un espacio de cultivo con un ciclo de luz de 16 horas y 8 horas de sombra, a una temperatura de 28 °C y una luz de 2000 lux. Se conservarán los explantes durante un lapso de 2 meses para su evaluación más adelante.

3.6. Materiales y equipos e insumos.

a) Materiales

- ✓ Pizeta
- ✓ Plumón indeleble
- ✓ Saran wrap
- ✓ Bolsas autoclavables
- ✓ Papel toalla
- ✓ Frascos de vidrio
- ✓ Pinza
- ✓ Bisturí
- ✓ Espátula
- ✓ Placas Petri
- ✓ Encendedor
- ✓ Mechero

- ✓ Gradilla
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Micropipeta
- ✓ Probeta
- ✓ Vaso precipitado
- ✓ Pipeta
- ✓ Platos de pesaje
- ✓ Magneto

b) Equipos

- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ Aire acondicionado
- ✓ Cabina de flujo laminar
- ✓ Estufa
- ✓ Agitador magnético
- ✓ Autoclave
- ✓ Refrigeradora
- ✓ Horno microondas
- ✓ Balanza analítica
- ✓ PH metro
- ✓ Destilador de agua

c) Insumos

- ✓ Murashige & Skoog
- ✓ Reguladores de crecimiento (auxinas, giberelinas, citoquininas)
- ✓ Antioxidantes (ácido cítrico, ácido ascórbico)
- ✓ Vitaminas (tiamina, myo inositol)
- ✓ Agente gelificante (agar)
- ✓ Fuente de carbono (Sacarosa)
- ✓ Antibioticos (cefotaxmicine)

3.7. Tratamientos de los datos

Los datos del experimento fueron organizados en una hoja de cálculo de Excel 365 a partir de la ficha de registro utilizada para el seguimiento de la micropropagación de *Aniba rosaeodora* mediante yemas apicales, en la cual se consignaron los datos generales del ensayo, la identificación de cada explante, la presencia de contaminación y su condición aséptica, así como sus características morfológicas y variables de desarrollo como número de hojas, crecimiento y altura a los 25 días. Además, se registró la viabilidad de cada explante y las observaciones correspondientes. Con base en esta información se calcularon indicadores importantes como el porcentaje de supervivencia, el porcentaje de contaminación, la altura del explante, el número de hojas y el número de nudos, lo que permitió evaluar de manera objetiva la respuesta de los explantes frente a los diferentes medios de cultivo.

3.8. Análisis de datos

En primera instancia, se aplicó una prueba de normalidad con el propósito de comprobar si los datos cumplían el supuesto de distribución normal; cuando este requisito no se verificó, se recurrió a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, mediante la cual fue posible contrastar las medianas de los tratamientos e identificar diferencias globales. Posteriormente, se utilizó la prueba post hoc de Dunnett para efectuar comparaciones múltiples entre los tratamientos tomando como referencia un grupo control, lo que permitió caracterizar de manera precisa el comportamiento diferencial de los medios de cultivo analizados.

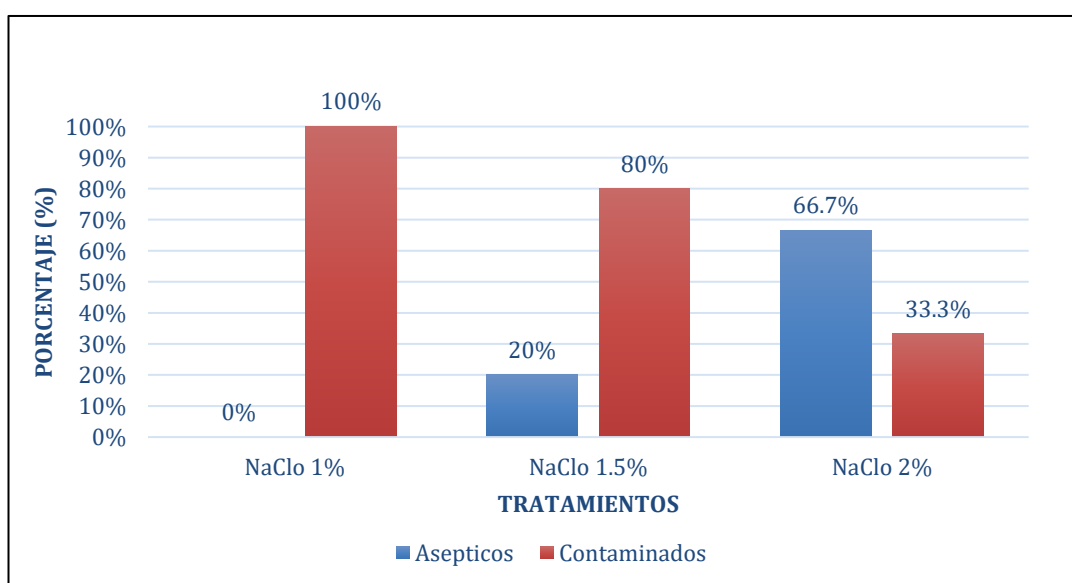
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Establecer el protocolo de asepsia eficientes para la micropropagación de *A. rosaeodora*.

En la figura 2, se evidencia el nivel de asepsia en la supervivencia de los explantes de *Aniba rosaeodora Ducke*, donde el T1 con NaClO al 1%, no se obtuvo ningún explante aséptico, evidenciando una ineficacia total del tratamiento, a diferencia de, el T2 con NaClO al 1.5%, el 20% de los explantes permanecieron sin contaminación, lo que representa una mejora notable, mientras que, el T3 con NaClO al 2% logró un 66.7% de explantes asépticos, reduciendo la presencia de hongos y bacterias al 33.3%, por lo tanto, existe una relación directa entre la concentración del desinfectante y el nivel de asepsia alcanzado, siendo el 2% la concentración más efectiva para controlar la contaminación microbiana superficial.

Figura 2

Asepsia y supervivencia de los explantes

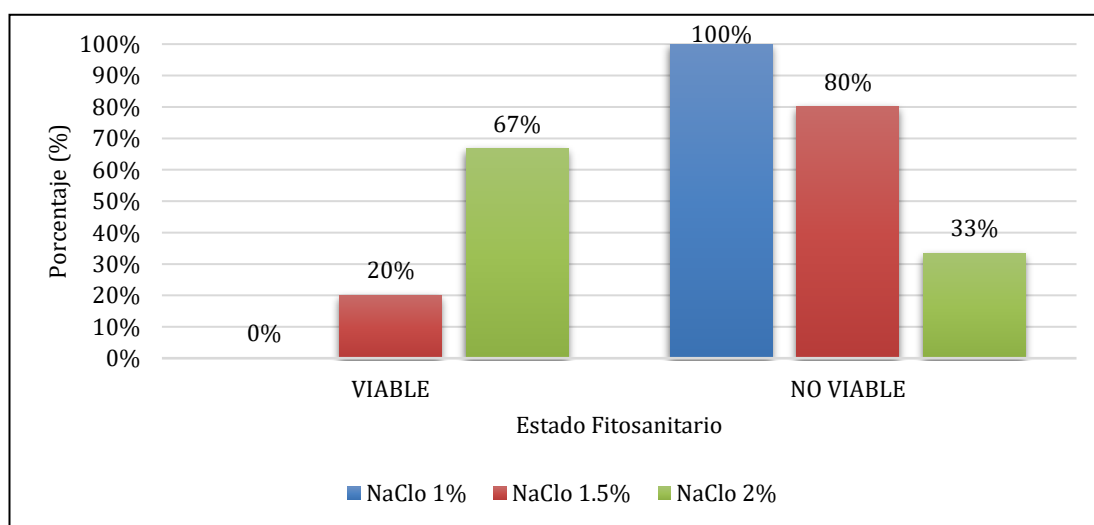


Nota. Resultados del procesamiento de datos.

En la figura 3, se evidencia la viabilidad durante el proceso de desinfección sobre los explantes de *Aniba rosaeodora Ducke*, donde el tratamiento con NaClO al 1% presentó una viabilidad nula (0%), alcanzando un 100% de pérdida. En contraste, el tratamiento con NaClO al 1.5% mostró una leve mejora, con un 20% de explantes viables y un 80% no viable, lo que indica que la concentración fue insuficiente para garantizar la eliminación completa de contaminantes, pero permitió conservar parcialmente la integridad del tejido vegetal. Por su parte, el tratamiento con NaClO al 2% mostró los resultados más favorables, con un 67% de explantes viables y solo un 33% no viable, demostrando un equilibrio adecuado entre desinfección y conservación del tejido.

Figura 3

Viabilidad de los tratamientos



Nota. Resultados del procesamiento de datos.

De acuerdo con el análisis de normalidad, se obtuvo que no todos los tratamientos presentan normalidad, siendo que T3 falla, por lo tanto, los supuestos de normalidad para aplicar pruebas paramétricas no se cumplen completamente. En este caso, a la variable *Viable*, arrojando un valor de $H = 12.794$ con 2 grados de libertad y un nivel de significancia de $p = 0.002$, por tanto, se evidencia que entre los tratamientos evaluados existen diferencias estadísticamente significativas. Como el valor de p es menor a 0.05, conlleva

a rechazar la hipótesis nula de igualdad de medianas, concluyéndose que al menos uno de los tratamientos presenta un comportamiento diferente en cuanto a la viabilidad de los individuos evaluados.

Tabla 5

Prueba de Kruskal-Wallis para la variable viable

	Viable
H de Kruskal-Wallis	12,794
gl	2
Sig. asin.	,002

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

Además, la prueba post hoc Dunnett para la variable viable muestran que entre los tratamientos evaluados existen diferencias estadísticamente significativas. Específicamente, el T3 presenta una media de individuos viables significativamente mayor que la del T1 y el T2, con valores de $p = 0.000$ en ambas comparaciones, lo que confirma que el T3 genera un efecto positivo sobre la viabilidad. En cambio, la diferencia entre T1 y T2 no es significativa ($p = 0.628$), indicando que ambos tratamientos producen resultados similares, por lo tanto, el Tratamiento 3 es el más eficaz para incrementar el número de individuos viables.

Tabla 6

Pruebas post hoc para la variable viable

(I) Tratamiento	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo al 95% Límite inferior	Límite superior
T1	T2	-1,500	1,360	,628	-5,41	2,41
	T3	-8,667*	1,358	,000	-12,57	-4,76
T2	T1	1,500	1,360	,628	-2,41	5,41
	T3	-7,167*	1,138	,000	-10,39	-3,95
T3	T1	8,667*	1,358	,000	4,76	12,57
	T2	7,167*	1,138	,000	3,95	10,39

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

A la variable no viable mostró un valor de H de 12.794 con 2 grados de libertad y un nivel de significancia de 0.002, indicando entre los tratamientos

evaluados la existencia de diferencias estadísticamente significativas. Como el valor de p es menor a 0.05, conlleva a rechazar la hipótesis nula de igualdad de medianas, concluyéndose que los tratamientos no tienen el mismo efecto sobre el número de individuos no viables. Esto sugiere que al menos uno de los tratamientos genera un mayor número de individuos no viables en comparación con los otros, siendo necesario realizar análisis post hoc para determinar entre qué tratamientos se presentan estas diferencias específicas.

Tabla 7

Prueba de Kruskal-Wallis para la variable no viable

	No viable
H de Kruskal-Wallis	12,794
gl	2
Sig. asin.	,002

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

Además, la prueba post hoc Dunnett para la variable no viable muestran que, las diferencias entre T1 y T2 no son estadísticamente significativas ($p = 0.628$), lo que indica que ambos tratamientos tuvieron un comportamiento similar. Sin embargo, al comparar T1 con T3, se observa una diferencia significativa, con un valor positivo de 8.667, lo que evidencia que el tratamiento T3 redujo notablemente la cantidad de explantes no viables en comparación con el tratamiento T1. De manera similar, la comparación entre T2 y T3 también demostró una diferencia significativa con un valor de 7.167, lo que confirma que la concentración más alta logró un efecto significativamente mejor en la reducción de explantes no viables.

Tabla 8*Pruebas post hoc para la variable no viable*

(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T1	T2	1,500	1,360	,628	-2,41	5,41
	T3	8,667*	1,358	,000	4,76	12,57
T2	T1	-1,500	1,360	,628	-5,41	2,41
	T3	7,167*	1,138	,000	3,95	10,39
T3	T1	-8,667*	1,358	,000	-12,57	-4,76
	T2	-7,167*	1,138	,000	-10,39	-3,95

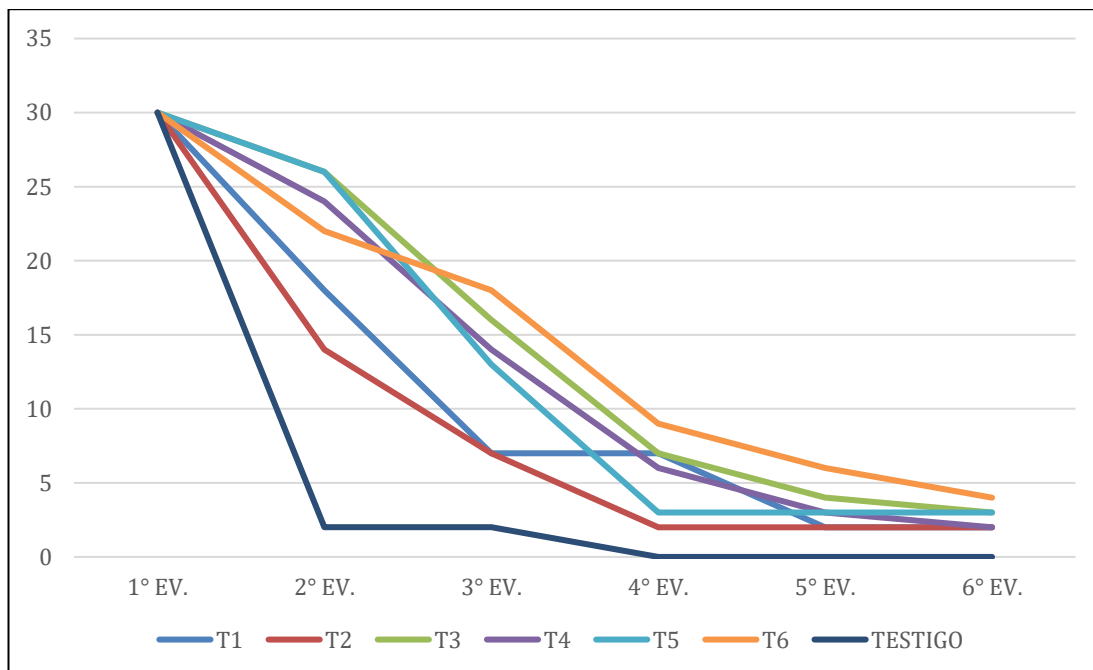
Nota. Resultados del procesamiento de datos.

4.2. Analizar la tasa de supervivencia de las yemas apicales en la fase de establecimiento en los diferentes tratamientos de sales minerales y niveles de sacarosa de *A. rosaeodora*.

En la figura 4, se evidencia que la cantidad de hojas, la cual es indispensable para evaluar la supervivencia y adaptación de los explantes en los diferentes tratamientos de sales minerales y niveles de sacarosa. En este caso, inicialmente, todos comenzaron con 30 explantes con hojas, pero en la segunda evaluación, los tratamientos T3, T4 y T5 conservaron 26 explantes con hojas, mientras que T6 mantuvo 22 explantes con hojas, mostrando mejor adaptación que T1 con 18 explantes con hojas y T2 con 14 explantes con hojas. A partir de la tercera evaluación, la reducción fue más notoria, donde T6 y T3 obtuvieron 18 y 16 explantes con hojas respectivamente, en contraste con la sexta evaluación, donde los tratamientos más eficaces fueron T6 con 4 explantes que representaron entre 2 y 5 hojas cada uno, seguido de T3 de 3 explantes que mostraron entre 3 y 5 hojas; y T5 con 3 explantes que conservaron entre 1 y 3 hojas, mientras que, T1, T2 y T4 se estabilizaron en 2 explantes con 2 hojas cada uno, a diferencia del testigo perdió completamente su follaje desde la cuarta evaluación, quedando en ausencia de hojas.

Figura 4

Cantidad de explantes con hojas en la fase de establecimiento de A. rosaeodora.



Nota. Resultados del procesamiento de datos.

La tabla 9, se muestra que en la variable cantidad de hojas mostró un valor de H de 8,206 y una significancia asintótica (Sig = 0,223). Como $p > 0.05$, en ese sentido, es aceptada la hipótesis nula de igualdad de medianas, concluyéndose que entre los tratamientos no existen diferencias estadísticas significativas respecto a la cantidad explantes con hojas.

Tabla 9

Prueba de Kruskal-Wallis para la variable cantidad de explantes con hojas

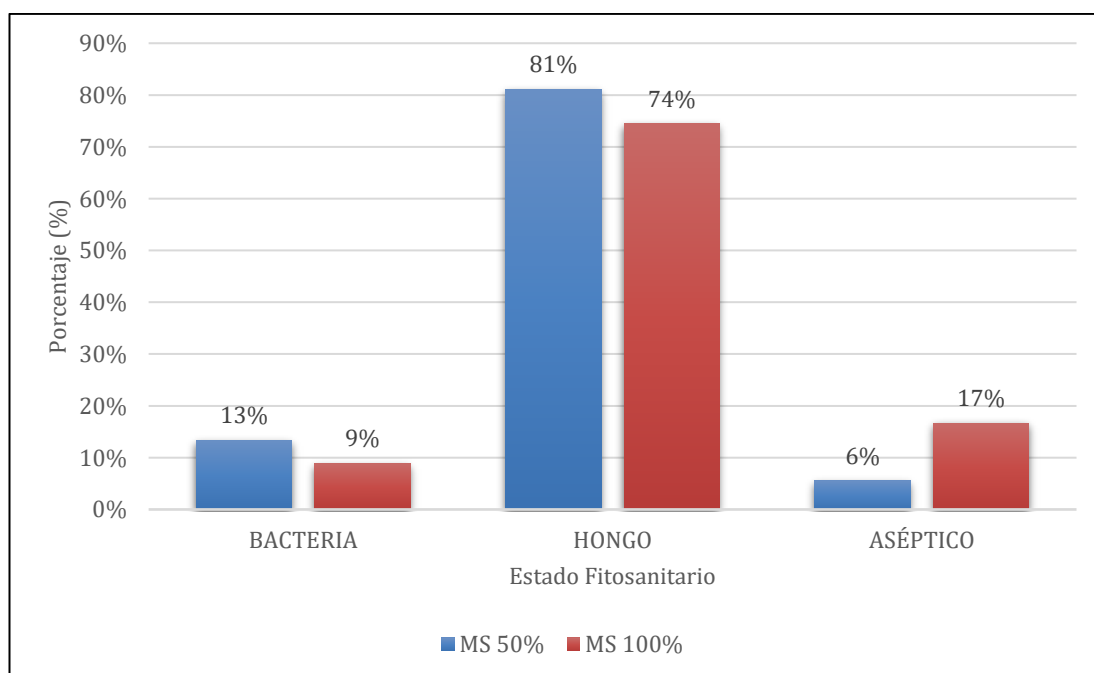
	Explantes con Hojas
H de Kruskal-Wallis	8,206
gl	6
Sig. asin.	,223

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

En la fase de establecimiento in vitro de las yemas apicales de *Aniba rosaeodora*, se evidencia que muestran diferencias notables en el nivel de contaminación y en la condición aséptica entre los tratamientos con diferentes concentraciones de sales minerales del medio Murashige y Skoog (MS).

Figura 5

Nivel de contaminación y condición aséptica en los tratamientos



Nota. Resultados del procesamiento de datos.

En la figura 5, se evidencia que el tratamiento con MS al 50% obtuvo una contaminación por bacterias del 13% y por hongos del 81%, mientras que, solo un 6% de los explantes permanecieron asépticos, por lo tanto, la incidencia de hongos fue muy alta, afectando considerablemente la supervivencia de los explantes. Por otro lado, en el tratamiento con MS al 100%, la contaminación bacteriana fue ligeramente menor en un 9% y la contaminación fúngica también disminuyó hasta 74%. Sin embargo, el porcentaje de explantes asépticos aumentó a 17%, lo que evidencia una mejor respuesta del material vegetal en un medio con concentración completa de sales minerales.

La tabla 10 se muestra la prueba realizada sobre la variable bacteria, que arrojó una estadística H de 2,978 con 6 grados de libertad (df) y una significación asintótica (Sig. = 0,812). Al superar el valor de significación el umbral de 0,05, se concluye que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cuanto a la presencia de bacterias. Por consiguiente, la concentración de sales minerales y las cantidades de sacarosa utilizadas no afectaron de manera notable a la incidencia de la contaminación bacteriana.

Tabla 10

Prueba de Kruskal-Wallis para la variable bacterias

	Bacterias
H de Kruskal-Wallis	2,978
gl	6
Sig. asin.	,812

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

Se reporta en la tabla 11, se muestra lo obtenido aplicado a la variable hongos, donde el valor obtenido para el estadístico H fue 2,427 y una significancia asintótica (Sig.) de 0,877. Como este valor supera 0,05, conlleva a concluir que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en relación con la contaminación por hongos, por lo tanto, las distintas concentraciones de sales minerales y niveles de sacarosa no ejercieron una influencia significativa en la aparición de hongos en los explantes.

Tabla 11

Prueba de Kruskal-Wallis para la variable hongos

	Hongos
H de Kruskal-Wallis	2,427
gl	6
Sig. asin.	,877

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

En la tabla 12 se presentan los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis aplicada a la variable “explantos asépticos”. El estadístico H obtuvo un valor de 17,740, con 6 grados de libertad (gl) y una significancia asintótica (Sig.) de 0,007. Al ser esta última inferior a 0,05, se infiere la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos analizados. En consecuencia, la proporción de explantes que se mantuvo aséptica difirió de manera significativa según el tratamiento empleado, lo que pone de manifiesto que la composición del medio de cultivo, en especial la concentración de sales minerales y los niveles de sacarosa, ejerce un efecto directo sobre la capacidad de los explantes para permanecer libres de contaminación.

Tabla 12

Prueba de Kruskal-Wallis para la variable asépticos

	Asépticos
H de Kruskal-Wallis	17,740
gl	6
Sig. asin.	,007

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

En la tabla 13, para la variable *asépticos* muestran que, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el testigo, los tratamientos T5 y T6 presentaron las mayores diferencias de medias con respecto al testigo con valores de 11,833 y 11,333, respectivamente, asimismo presentaron valores de significancia cercanos al umbral de $p = 0,073$ y $p = 0,110$, indicando una tendencia positiva hacia una mayor asepsia en comparación con los demás tratamientos.

En contraste, los tratamientos T1 a T4 mostraron diferencias menores y sin relevancia estadística. Aunque los resultados no alcanzan significancia estadística, los tratamientos T5 y T6 muestran una tendencia favorable hacia una mayor asepsia en los explantes de *Aniba rosaeodora*, lo cual podría asociarse a una mejor formulación del medio de cultivo o a una mayor capacidad del tejido vegetal para resistir la contaminación bajo esas condiciones durante la fase de establecimiento in vitro.

Tabla 13*Pruebas post hoc para la variable asépticos*

(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
TESTIGO	T1	-5,667	2,929	,679	-19,71	8,38
	T2	-5,000	2,271	,548	-15,81	5,81
	T3	-8,333	3,102	,354	-23,23	6,56
	T4	-7,500	3,347	,532	-23,60	8,60
	T5	-11,833	2,721	,073	-24,86	1,19
	T6	-11,333	2,902	,110	-25,25	2,58
T1	TESTIGO	5,667	2,929	,679	-8,38	19,71
	T2	,667	3,676	1,000	-13,69	15,02
	T3	-2,667	4,240	1,000	-18,99	13,66
	T4	-1,833	4,423	1,000	-18,92	15,26
	T5	-6,167	3,970	,882	-21,46	9,13
	T6	-5,667	4,096	,943	-21,43	10,09
T2	TESTIGO	5,000	2,271	,548	-5,81	15,81
	T1	-,667	3,676	1,000	-15,02	13,69
	T3	-3,333	3,815	,999	-18,34	11,67
	T4	-2,500	4,017	1,000	-18,47	13,47
	T5	-6,833	3,513	,670	-20,45	6,79
	T6	-6,333	3,655	,793	-20,59	7,93
T3	TESTIGO	8,333	3,102	,354	-6,56	23,23
	T1	2,667	4,240	1,000	-13,66	18,99
	T2	3,333	3,815	,999	-11,67	18,34
	T4	,833	4,539	1,000	-16,66	18,32
	T5	-3,500	4,099	,999	-19,34	12,34
	T6	-3,000	4,222	1,000	-19,26	13,26
T4	TESTIGO	7,500	3,347	,532	-8,60	23,60
	T1	1,833	4,423	1,000	-15,26	18,92
	T2	2,500	4,017	1,000	-13,47	18,47
	T3	-,833	4,539	1,000	-18,32	16,66
	T5	-4,333	4,288	,996	-21,00	12,33
	T6	-3,833	4,405	,999	-20,87	13,20
T5	TESTIGO	11,833	2,721	,073	-1,19	24,86
	T1	6,167	3,970	,882	-9,13	21,46
	T2	6,833	3,513	,670	-6,79	20,45
	T3	3,500	4,099	,999	-12,34	19,34
	T4	4,333	4,288	,996	-12,33	21,00
	T6	,500	3,950	1,000	-14,72	15,72
T6	TESTIGO	11,333	2,902	,110	-2,58	25,25
	T1	5,667	4,096	,943	-10,09	21,43
	T2	6,333	3,655	,793	-7,93	20,59
	T3	3,000	4,222	1,000	-13,26	19,26
	T4	3,833	4,405	,999	-13,20	20,87
	T5	-,500	3,950	1,000	-15,72	14,72

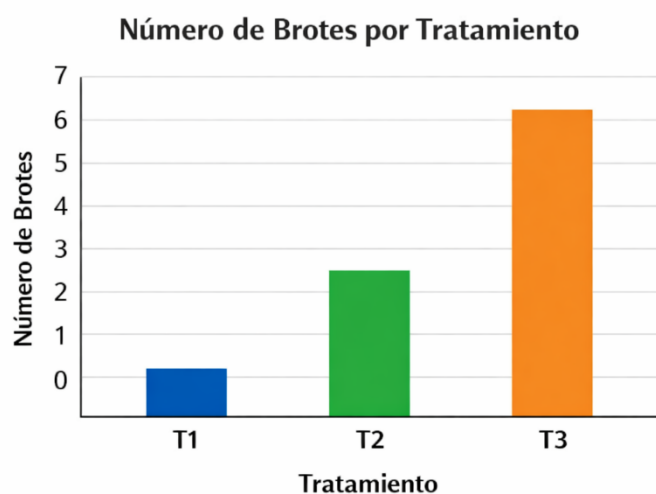
Nota. Resultados del procesamiento de datos.

4.3. Determinar la interacción y concentración óptima de los reguladores de crecimiento en la fase de multiplicación y enraizamiento de *A. rosaeodora*.

La figura 6 el gráfico muestra la comparación del número promedio de brotes obtenidos en tres tratamientos (T1, T2 y T3), cada uno con 30 repeticiones. Se observa que el tratamiento T1 no presentó brotes, mientras que el tratamiento T2 alcanzó un promedio de 2 brotes y el tratamiento T3 obtuvo el mayor promedio con 6 brotes, indicando una respuesta significativamente superior en la inducción de brotes.

Figura 6

Promedio de número de brotes por tratamiento en 30 repeticiones.



El análisis de varianza (ANOVA) evidenció diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). La prueba de Tukey confirmó que:

- T1 difiere significativamente de T2 y T3.
- T2 difiere significativamente de T3.

Estos resultados corroboran que el tratamiento T3 fue estadísticamente superior en la formación de brotes, además de mostrar mayor viabilidad y capacidad regenerativa del material vegetal.

La tabla 14 muestra diferencias claras entre los tres tratamientos evaluados. En el tratamiento T1 predomina ampliamente la no viabilidad, con solo 3 unidades viables frente a 27 no viables, lo que indica una baja respuesta positiva del material tratado. En el tratamiento T2 la proporción mejora, alcanzándose 10 unidades viables y 20 no viables, evidenciando un incremento en la supervivencia respecto a T1, aunque aún predomina la no viabilidad. En contraste, el tratamiento T3 presenta el mejor desempeño, con 20 unidades viables y solo 10 no viables, lo que refleja una mayor capacidad de mantener células o estructuras vivas bajo las condiciones aplicadas.

Tabla 14

Crecimiento en la fase de multiplicación de A. rosaeodora.

Tratamiento	Viable	No viable
T1	3	27
T2	10	20
T3	20	10

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

La tabla 15 muestra el comportamiento de los tres tratamientos (T1, T2 y T3) respecto a la presencia de bacterias, hongos y respuestas fisiológicas del tejido, como fenolización, callosidad y formación de raíz. En el tratamiento T1 se observa una baja incidencia bacteriana y ausencia de fenolización, callosidad y raíces, mientras que el crecimiento de hongos es considerable. En el tratamiento T2, la presencia de bacterias aumenta notablemente y se evidencia un nivel moderado de fenolización, aunque no se formaron callos ni raíces. Finalmente, el tratamiento T3 presenta un comportamiento equilibrado, con valores intermedios de bacterias y hongos, además de una mayor fenolización y la única aparición de callosidad entre los tratamientos, aunque sin formación de raíces.

Tabla 15

Crecimiento en la fase de enraizamiento de A. rosaeodora.

Tratamiento	Bacteria	Hongo	Fenolización	Callosidad	Raíz
T1	2	28	0	0	0
T2	15	9	6	0	0
T3	7	3	19	1	0

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

En la fase de multiplicación, el tratamiento T1 muestra valores de significancia menores a 0,05 tanto en la prueba de normalidad, indicando que sus datos no presentan una distribución normal. A diferencia, los tratamientos T2 y T3 reportan una mejora significativa superior a 0,05 en al menos una de las pruebas lo que sugiere que en estos casos no se rechaza la normalidad y, por tanto, sus datos pueden considerarse distribuidos de manera normal.

Tabla 16

Pruebas de normalidad de crecimiento en la fase de multiplicación de A. rosaeodora.

Tratamiento	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico
T1	,427	5	,003	,600
T2	,227	5	,200*	,910
T3	,251	5	,200*	,826

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

En la fase de enraizamiento, los resultados evidencian que el tratamiento T1 nuevamente presenta un valor de significancia por debajo de 0,05, indicando ausencia de normalidad. En cambio, los tratamientos T2 y T3 registran valores superiores a 0,05, lo que permite concluir que los datos de estos tratamientos sí cumplen con el supuesto de normalidad.

Tabla 17

Pruebas de normalidad Crecimiento en la fase de enraizamiento de A. rosaeodora.

Tratamiento	Shapiro-Wilk ^a	
	gl	Sig.
T1	5	,001
T2	5	,468
T3	5	,129

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

La aplicación de la prueba de Kruskal-Wallis al análisis del crecimiento de *A. rosaeodora* durante la fase de enraizamiento permitió identificar las diferencias significativas entre los tres tratamientos considerados. El estadístico H alcanzó un valor de 0,709, con 2 grados de libertad y una significancia de 0,701. Al ser este valor superior a 0,05, se infiere que no se registran diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento enraizado entre los tratamientos evaluados. En consecuencia, aunque puedan observarse variaciones en los valores individuales, los tratamientos T1, T2 y T3 muestran un comportamiento estadístico equivalente en esta etapa, sin que ninguno de ellos sobresalga de forma significativa respecto a los otros.

Tabla 18

Prueba de Kruskal-Wallis para crecimiento en la fase de multiplicación y enraizamiento de A. rosaeodora.

	Enraizamiento
H de Kruskal-Wallis	,709
gl	2
Sig. asin.	,701

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

Respecto al Objetivo Específico 1 (OE1), orientado a establecer un protocolo de asepsia eficiente para la micropropagación de *A. rosaeodora*. Durante la fase de implementación de los protocolos, se evidenciaron diferencias significativas en cuanto a la asepsia, el tipo de contaminación y la supervivencia de los explantes. En el tratamiento con NaClO al 1%, se

observó un alto porcentaje de contaminación tanto bacteriana como fúngica. De los quince explantes cultivados, ocho se mantuvieron viables y siete no sobrevivieron, lo que representa una viabilidad del 53.3%, pero con muy baja asepsia. Solo un explante permaneció libre de contaminación, equivalente al 6.7% del total, mientras que el resto presentó crecimiento visible de hongos o bacterias, por lo tanto, el T1 fue insuficiente para eliminar microorganismos superficiales o endógenos, permitiendo su proliferación en el medio de cultivo. Al aumentar la concentración a NaClO al 1.5 %, se evidenció una mejor respuesta en la asepsia y una mayor tolerancia de los explantes al desinfectante. De los quince explantes introducidos, ocho permanecieron viables y siete no viables, manteniendo el mismo porcentaje de viabilidad que el tratamiento anterior con 53.3%. Sin embargo, el número de explantes asépticos aumentó a cinco equivalente a 33.3 %, lo que representa una reducción considerable de la contaminación microbiana, especialmente fúngica. Además, todos los explantes conservaron un color verde uniforme, lo que indica que el tejido vegetal no sufrió daño fisiológico ni pérdida de integridad celular por la acción del desinfectante, por lo tanto, el T2 constituye un punto intermedio favorable.

Por otro lado, en el tratamiento con NaClO al 2 %, se registró una viabilidad elevada del 93.3%, ya que catorce de los quince explantes mantuvieron su vitalidad y color verde característico. No obstante, solo un explante permaneció completamente aséptico en un 6.7%, mientras que, los demás presentaron contaminación tanto por hongos como por bacterias. Aunque la viabilidad fue alta, la persistencia de microorganismos sugiere que el incremento de la concentración del desinfectante no garantizó una mayor eliminación de contaminantes, posiblemente porque estos se encontraban en tejidos internos con contaminación endógena o porque el tiempo de exposición no fue suficiente para su total erradicación, por lo tanto, el T3 resultó la concentración más tolerada por los explantes.

En el estudio de Handa et al., (2005), se reportó una supervivencia del 71% y una germinación del 53% cuando se aplicó hipoclorito de sodio al 2% durante

10 minutos, mientras que Campos et al., (2020) obtuvo un 87% de supervivencia en *Swietenia macrophylla* utilizando NaClO al 3% durante 15 minutos. Estos hallazgos sugieren que las concentraciones comprendidas entre 2% y 3%, con tiempos de exposición de 10 a 15 minutos, representan un rango óptimo para especies leñosas de similar estructura y contenido fenólico.

Asimismo, la inclusión de antioxidantes como el ácido ascórbico ($250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y el polivinilpirrolidona (PVP $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) ha demostrado reducir significativamente la oxidación fenólica, un problema recurrente en tejidos vegetales ricos en compuestos secundarios. En el caso de Handa, este tratamiento permitió conservar la viabilidad de los explantes y mejorar el aspecto morfológico de los brotes. Por otro lado, la adición de antibióticos como la estreptomicina ($500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) fue efectiva en la reducción de contaminaciones bacterianas, aunque su eficacia depende de la tolerancia del material vegetal y debe utilizarse con precaución para evitar efectos fitotóxicos.

El objetivo específico 2 (SO2) en la fase de establecimiento in vitro de las yemas apicales de *Aniba rosaeodora* se observó una notable variación en las tasas de supervivencia entre los distintos tratamientos que empleaban diferentes cantidades de sales minerales y niveles de sacarosa.

En la primera etapa, todos los tratamientos presentaron un alto porcentaje de explantes viables, con valores iniciales entre 18 y 30 unidades, lo que evidencia una respuesta favorable al proceso de desinfección y siembra. Sin embargo, conforme avanzaron las evaluaciones, se registró una disminución progresiva en el número de explantes viables y asépticos, asimismo, los tratamientos T5 y T6 destacaron por mantener la mayor cantidad de explantes vivos y asépticos hasta la sexta evaluación, lo que indica una mayor estabilidad fisiológica y una adaptación más efectiva a las condiciones del medio de cultivo.

Respecto a la cantidad de explantes con hojas se obtuvo que todos los tratamientos iniciaron con el máximo número de 30 unidades, pero con una reducción gradual a lo largo del tiempo, particularmente, el tratamiento T6 conservó la mayor cantidad de hojas hasta la última evaluación con 4 unidades, seguido de T3 y T5, lo que sugiere que estos medios favorecieron una mejor actividad fotosintética y un desarrollo foliar sostenido, asociados con una mayor supervivencia, en cambio, los tratamientos T1, T2 y el testigo presentaron una pérdida foliar acelerada, lo cual denota estrés fisiológico y baja adaptación.

En cuanto al color de los explantes, la predominancia del color verde en los tratamientos T3, T4 y T6 a lo largo de las evaluaciones evidenció mayor vigor y menor oxidación fenólica. Por el contrario, los tratamientos T1 y T2 mostraron un cambio más rápido hacia tonos marrones, indicativos de necrosis y pérdida de viabilidad. La persistencia del color verde en T3, T4 y T6 confirma que estos medios proporcionaron un equilibrio adecuado entre las sales minerales y los niveles de sacarosa, permitiendo un metabolismo estable y evitando procesos de oxidación.

El análisis de contaminación microbiana mostró que, durante las primeras evaluaciones, predominó la contaminación fúngica sobre la bacteriana. No obstante, esta disminuyó progresivamente en los tratamientos efectivos, hasta desaparecer completamente en T5 y T6 hacia la sexta evaluación, por lo tanto, las condiciones de asepsia y las formulaciones de estos tratamientos fueron las más adecuadas para prevenir la proliferación de microorganismos, garantizando la supervivencia de los explantes.

Diversos autores como Rafael (2022); Campos (2020); Jardim (2010) evidencian que los medios con sales completas, ya sean WPM o MS al 100%, promueven un mejor crecimiento que sus versiones diluidas. Rafael observó en *Bertholletia excelsa* que el medio WPM al 100% generó una mayor altura de brotes y número de nudos que el WPM al 50%, mientras que Campos confirmó que el WPM superó al MS e incluso a medios hidropónicos en la

propagación de *Swietenia macrophylla*. Estos resultados permiten inferir que el medio WPM, diseñado específicamente para especies leñosas, ofrece una composición mineral más equilibrada para la fase de establecimiento de *A. rosaeodora*, aunque el MS también puede resultar funcional si se mantiene su concentración completa.

En cuanto al nivel de sacarosa, los distintos trabajos coinciden en que una concentración de 30 g/L favorece el desarrollo y la brotación de las yemas apicales, proporcionando la osmolaridad adecuada para el metabolismo celular sin provocar estrés osmótico. Jardim empleó esta concentración en sus ensayos con *A. rosaeodora*, logrando una media de 2,13 brotes por explante al combinarla con BAP ($4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) y AIA ($6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Además, las concentraciones superiores, de 40 a 50 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, no mostraron mejoras significativas y, en algunos casos, inhibieron el crecimiento debido al exceso de presión osmótica.

Por otro lado, el balance hormonal también influye en esta fase, por lo tanto, la combinación de una citoquinina en baja concentración, como el BAP, con una auxina ligera, como el AIA, favorece la formación de brotes sin inducir callogénesis excesiva, manteniendo la morfología natural de las yemas y facilitar su posterior enraizamiento, garantizando así la viabilidad del material vegetal y contribuyendo a la conservación y propagación sostenible de esta especie de alto valor ecológico y económico.

Respecto al Objetivo Específico 3 (OE3), en primer lugar, el análisis de los promedios evidenció diferencias claras entre los tratamientos. El tratamiento T1 no presentó brotes, lo que refleja condiciones desfavorables para la regeneración del tejido. En contraste, T2 alcanzó un promedio de 2 brotes, mostrando una respuesta moderada pero limitada. El tratamiento T3 fue el más eficiente, con un promedio de 6 brotes, confirmando su superioridad en la inducción de estructuras regenerativas. La prueba de Tukey corroboró que estas diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0.05$), destacando a T3 como el tratamiento más favorable para la propagación in vitro. Las pruebas de normalidad evidenciaron que el tratamiento T1 presenta una alta

variabilidad y falta de ajuste a la distribución normal en ambas fases, lo que sugiere condiciones menos favorables para el desarrollo del material vegetal bajo este tratamiento. En contraste, T2 y T3 reportaron valores de significancia superiores a 0,05 en la prueba de Shapiro-Wilk, lo que indica una mayor estabilidad y homogeneidad en los datos, especialmente durante la fase de enraizamiento. Este comportamiento estadístico más consistente coincide con los resultados biológicos observados.

En cuanto a la presencia de contaminantes, los tratamientos mostraron marcadas diferencias. En T1 predominó notablemente el crecimiento fúngico, acompañado de una muy baja incidencia de bacterias y ausencia de respuestas fisiológicas como fenolización, callosidad o formación de raíz. Este patrón sugiere que las condiciones de T1 favorecieron la proliferación de hongos y limitaron la respuesta regenerativa del tejido. Por su parte, T2 presentó una mayor presencia bacteriana y niveles moderados de fenolización, lo que indica una respuesta más activa del tejido ante el estrés, aunque sin formación de estructuras regenerativas. T3 destacó por presentar niveles más equilibrados de hongos y bacterias, además de ser el único tratamiento en inducir callosidad y mostrar la mayor frecuencia de fenolización, lo que sugiere mayor actividad metabólica y potencial regenerativo.

Los resultados de viabilidad corroboran estas tendencias: mientras T1 presentó la menor proporción de tejidos viables (3 viables frente a 27 no viables), T2 mostró una mejora moderada con 10 unidades viables, y T3 evidenció un claro predominio de tejido viable (20 viables y 10 no viables). Esto refuerza la idea de que T3 ofrece un ambiente más adecuado para la supervivencia y respuesta del material vegetal.

CONCLUSIONES

- Respecto al protocolo de asepsia eficientes para la micropropagación, se demostró que el incremento gradual de la concentración de hipoclorito de sodio mejora el control de contaminantes, donde el tratamiento con NaClO al 1.5% demostró ser el más equilibrado, al mantener una adecuada viabilidad de los explantes y reducir parcialmente la contaminación, mientras que, el 2% mostró una alta capacidad de desinfección superficial, pero con limitaciones frente a contaminaciones endógenas.
- Respecto a la tasa de supervivencia de las yemas apicales de *A. rosaeodora* en la fase de establecimiento fue mayor en los tratamientos T5 y T6, seguidos de T3 y T4, mientras que T1, T2 y el testigo presentaron una supervivencia significativamente menor. Además, la respuesta positiva de T5 y T6 se asocia con un balance óptimo de nutrientes minerales y concentración de sacarosa, que favoreció tanto la integridad fisiológica como la estabilidad aséptica de los explantes durante el periodo experimental.
- Respecto a la concentración y interacción optima en reguladores de crecimiento en la fase de multiplicación y enraizamiento de *A. rosaeodora*, el tratamiento T3 fue el más efectivo, al mostrar mayor promedio de brotes, viabilidad, mejor respuesta fisiológica y un comportamiento microbiológico más equilibrado. A pesar que no se encontraron diferencias estadísticas significativas en el enraizamiento, las tendencias observadas confirman que la combinación de reguladores usada en T3 constituye la concentración e interacción óptima entre los tratamientos evaluados.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda incorporar estudios fisiológicos y bioquímicos que expliquen la mejor adaptación observada, así como realizar evaluaciones de supervivencia a corto, mediano y largo plazo. Finalmente, se sugiere validar estos tratamientos en la fase de aclimatación en invernadero, cuantificando mortalidad, crecimiento y calidad sanitaria. De igual forma, es conveniente caracterizar el microbioma endógeno y exógeno mediante herramientas de secuenciación para diseñar estrategias de control más precisas.
- Se recomienda aumentar el tamaño muestral y aplicar diseños experimentales aleatorizados y bloqueados que controlen la variabilidad técnica y ambiental. Asimismo, es fundamental estandarizar las variables de respuesta, establecer un control de calidad riguroso y aplicar análisis estadísticos robustos que permitan evaluar interacciones entre tratamientos. También se sugiere evaluar la respuesta del protocolo en distintos genotipos para verificar su estabilidad y reproducibilidad.
- Se recomienda validar los protocolos optimizados en ensayos de escalamiento semi-industrial para evaluar su aplicabilidad real, costos y eficiencia productiva. Es importante complementar estos ensayos con análisis de costo-beneficio y de impacto ambiental. Asimismo, los resultados deben integrarse en programas de conservación, reforestación y reintroducción en campo, monitoreando tanto la supervivencia de las plantas como la calidad genética y química del material propagado.

REFERENCIAS

- AGRICULTURA, M. de, 2006. AGRICULTURA Aprueban Categorización de Especies Amenazadas de Flora Silvestre DECRETa SUPREMO N° 043-2006-AG EL PRESIDENTE DE LA REPUBLICA. , pp. 13-17.
- ALCANTARA CORTES, johan steven, ACERO GODOY, jovanna, ALCANTARA CORTES, jonathan david y SANCHEZ MORA, ruth melida, 2019. Principales reguladores hormonales y sus interacciones en crecimiento vegetal. *SciELO Analytics* [en línea], vol. 17, no. 1794-2470, pp. 1-21. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>.
- ARTURO, A., TORREZ, A., RAMOS, L., ALVES, K. y SOUSA, D., 2018. Tratamientos químico y biológico en semillas de Aniba rosaeodora para el control de Heilipus odoratus (Coleoptera , Curculionidae , Molytinae) en viveros , Amazonas , Brasil Chemical and biological treatments of seeds of Aniba rosaeodora for the control. , vol. 39, no. 2, pp. 299-308. DOI 10.4067/S0717-92002018000200299.
- BALOGH, F.S., GUIZADO, S.J.V., ALTAF, M.T., YÜCE, I., ÇİLESİZ, Y., BEDİR, M., NADEEM, M.A., HATİPOĞLU, R. y GÓMEZ, J.C.C., 2022. Applicability of inter-primer binding site iPBS- retrotransposon marker system for the assessment of genetic diversity and population structure of Peruvian rosewood (Aniba rosaeodora Ducke) germplasm. *Molecular Biology Reports* [en línea], vol. 49, no. 4, pp. 2553-2564. ISSN 15734978. DOI 10.1007/s11033-021-07056-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-07056-8>.
- CAMPOS, J., ARTEAGA, M., CAMPOS, S., CHICO, J. y CERNA, L., 2020. Establecimiento de un protocolo de desinfección y micropropagación in vitro de «caoba» Swietenia macrophylla King (Meliaceae). *Arnaldoa* [en línea], vol. 27, no. 1, pp. 1-16. ISSN 2413-3299. Disponible en: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.271.27107>.

- CORTES, A., PÉREZ MG, C. y RM, S.M., 2017. Importancia de los cultivos vegetales in vitro para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación. *Biociencias* [en línea], vol. 1, pp. 71-83. Disponible en: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/Biociencias/article/view/2222/2382>.
- DE-SOUZA, R., ADAMS, C.R., DE-MELO, R.C., GUIDOLIN, A.F., MICHEL, A. y COIMBRA, J.L.M., 2022. Growth regulators and their reflection on different hop genotypes cultivated under in vitro conditions. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 82, pp. 1-8. ISSN 16784375. DOI 10.1590/1519-6984.242596.
- DE BARTOLINI, B. y LALLANA, V., 1995. Catedra de fisiología vegetal : Terminos comunmente usados en cultivo de tejidos. , pp. 23.
- DELGADO-PAREDES, G.E., VÁSQUEZ-DÍAZ, C., ESQUERRE-IBÁÑEZ, B., ZUÑE-DA SILVA, F., BAZÁN-SERNAQUÉ, P. y ROJAS-IDROGO, C., 2023. In vitro seed germination, micropropagation and germplasm conservation of *Cedrela odorata* (Meliaceae) in northern Peru. *Bosque*, vol. 44, no. 1, pp. 97-109. ISSN 07179200. DOI 10.4067/s0717-92002023000100097.
- DOHA, C. 15;, 2010. Earth Negotiations Bulletin. . S.I.:
- FERNANDEZ SILVA, A., 2023. *Estrategias de recuperacion de especies Aromaticas del genero Aniba (palo rosa) en el distrito de puerto bermudez, oxapampa, pasco*. [en línea]. S.I.: s.n. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/5610>.
- GUTIERREZ, H., CASTANEDA, R., FLORES, E., MENDEZ, S. y TARAZONA, G., 2023. EXPLOTACIÓN COMERCIAL ESTIMATION OF DENSITY AND POPULATION STRUCTURE OF ROSEWOOD IN PERU AND ITS IMPLICATIONS FOR COMMERCIAL EXPLOITATION. , vol. 32, no. 1, pp. 1-10.
- HANDA, L., SAMPAIO, P. de T. y QUISEN, R., 2005. Cultura in vitro de

embriões e de gemas de mudas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). PALAVRAS-CHAVE. *Acta Amazonica*, vol. 35, no. 1, pp. 29-33.

HARTMANN, H.T. y KESTER, D.E., 1997. *Propagación De Plantas*. S.l.: s.n.

HASSLER, M., 2020. World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World. [en línea]. Disponible en: <https://www.worldplants.de/world-plants-complete-list/complete-plant-list#1713805596>.

HERNÁNDEZ-SAMPIERI, R., 2018. *Las rutas Cuantitativa Cualitativa y Mixta* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 978-1-4562-6096-5. Disponible en: shorturl.at/mwS39.

HERRERA, S.K., 2022. *Efecto inductivo in vitro de citoquininas sobre el brotamiento de segmentos nodales de palo de rosa (Aniba rosiodora Ducke)*. S.l.: s.n.

IIAP, 2021. Palo rosa: al rescate de una especie emblemática de la Amazonía. *ATTALEA* [en línea], Disponible en: <http://attalea.iiap.gob.pe/2021/02/01/palo-rosa-al-rescate-de-una-especie-emblematica-de-la-amazonia/>.

INIA, 2019. *Manual De Conservación in-vitro en el banco de Germoplasma del INIA*. S.l.: s.n.

JARDIM, L.S., SAMPAIO, P. de T.B., COSTA, S. de S., GONÇALVES, C. de Q.B. y BRANDÃO, H.L.M., 2010. Effect of different growth regulators in vitro propagation of *Aniba rosaeodora* Ducke. *Acta Amazonica*, vol. 40, no. 2, pp. 275-280. ISSN 00445967. DOI 10.1590/s0044-59672010000200005.

KOMETTER, R., 2019a. Diagnóstico general, poblaciones naturales de *Aniba rosaeodora* Ducke "Palo Rosa". *Bio Modus Tropica* [en línea], no. May, pp. 1-47. DOI 10.13140/RG.2.2.14266.41921. Disponible en: <https://n9.cl/pyf4o>.

- KOMETTER, R., 2019b. Diagnóstico general, poblaciones naturales de *Aniba rosaeodora* Ducke "Palo Rosa". *Bio Modus Tropica* [en línea], no. May 2019, pp. 1-47. DOI 10.13140/RG.2.2.14266.41921. Disponible en: <https://n9.cl/pyf4o>.
- LENCINA, K.H., AVINIO, R.S., FAUERHARMEL, M., PIMENTEL, N. y BISOGNIN, D.A., 2020. Introduction of nodal segments and in vitro rooting of *apuleia leiocarpa*. *Ciencia Florestal*, vol. 30, no. 4, pp. 1290-1298. ISSN 19805098. DOI 10.5902/1980509843376.
- MARTÍNEZ, R., AZPIROZ, H., ROJO, G., RODRÍGUEZ, J. y RAMIREZ, B., 2010. *Biotecnología Aplicada a los Recursos Forestales*. S.l.: s.n. ISBN 9788578110796.
- MURASHIGE, T., 1974. *Plant Propagation Through Tissue Cultures*. S.l.: s.n.
- NAVARRO, R., 2001. *Micropropagación de Cedrelinga cateniformis (Ducke) Ducke «tornillo» a partir de yemas*. S.l.: s.n.
- PIERIK, R.L.M., 1990. *CULTIVO IN VITRO DE LAS PLANTAS SUPERIORES* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <https://bibliotecadigital.infor.cl/handle/20.500.12220/1516>.
- RAFAEL, J.L., 2022. *EFFECTO DE LOS NIVELES DE SACAROSA Y SALES EN LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE CASTAÑA (Bertholletia excelsa Bonpl.) - PUERTO MALDONADO - MADRE DE DIOS - 2020*. S.l.: s.n.
- RENGIFO SALGADO, E., 2007. *Las ramas floridas del bosque: experiencias en el manejo de plantas medicinales Amazónicas*. S.l.: s.n.
- RENGIFO SALGADO, E. y CAMPOS PÉREZ, J., 2007. Perfil de plan de manejo de Palo de rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). [en línea], no. 1, pp. 1-33. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/PUBL1341.pdf>.
- RIZZO, S., 2020. Efecto de diferentes tipos de luz en el crecimiento de plantas in vitro: Revisión de Literatura. *Agricola Panamericana* [en línea], pp. 25.

Disponible en:
[https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6812/1/CPA-2020-T094.pdf%0AStefano Victorio Rizzo Zaldumbide%0AStefano Vittorio Rizzo Zaldumbide](https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6812/1/CPA-2020-T094.pdf%0AStefano%20Victorio%20Rizzo%20Zaldumbide%0AStefano%20Vittorio%20Rizzo%20Zaldumbide).

ROCA, W.M. y MROGINSKI, L.A., 1991a. *CAPITULO 7: Regeneracion de plantas en cultivo de tejidos: embriogenesis somatica y organogenesis*. S.l.: s.n.

ROCA, W.M. y MROGINSKI, L.A., 1991b. *cultivo de tejidos en la agricultura fundamentos y aplicaciones*. S.l.: s.n. ISBN 9589183158.

ROCA, W.M. y RAMÍREZ, H., 2000. *Introducción a la biotecnología vegetal* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9786077330776. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.7/num7/art55/int55.htm>.

SAMPAIO BARBOSA, P. de T., PARENTE PEREIRA, R.C. y NODA, H., 1989. Enraizamiento de estacas de material juvenil de Pau-rosa (Aniba rosaeodora Ducke - Lauraceae). *Acta Amazonica*, vol. 19, no. 0, pp. 391-400. DOI 10.1590/1809-43921989191400.

SOTO, B., VALVERDE, L., ROJAS, A. y HINE, A., 2010. Establecimiento In Vitro De Cedrela Salvadorensis Standl. *Tecnología en Marcha* [en línea], vol. 23, no. 4, pp. 66-73. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4835827>.

TAYLOR, P., LEIFERT, C., MURPHY, K.P. y LUMSDEN, P.J., 1995. Critical Reviews in Plant Sciences Mineral and Carbohydrate Nutrition of Plant Cell and Tissue Cultures Mineral and Carbohydrate Nutrition of Plant Cell and Tissue Cultures. , vol. 2689, no. November 2013, pp. 37-41.

TROPICOS, 2020. Jamdin botanico missoure. [en línea]. Disponible en: <http://legacy.tropicos.org/Name/17802277>.

RUIZ, C., & VALENZUELA, M. (2022). *Metodología de la investigación*. Fondo Editorial UNAT. <https://doi.org/10.56224/EdiUnat.4>

TELES, A., SILVA, J., FERNANDES, J., CALABRESE, K., ABREU, A., MARINHO, S., MOUCHREK, A., FILHO, V., & ALMEIDA, F. (2020). Aniba rosaeodora (Var. amazonica Ducke) Essential Oil: Chemical Composition, Antibacterial, Antioxidant and Antitrypanosomal Activity. *Antibiotics*, 10(1), 24. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010024>

ANEXOS

Anexo 1 Matriz de consistencia

Título: EFECTO DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO EN MICROPROPAGACIÓN DE <i>Aniba Rosaeodora</i> (palo rosa) MEDIANTE YEMAS APICALES, PROVINCIA TAMBOPATA-MADRE DE DIOS				
Nombre del tesista: DORIZA HUAMAN CONDORI				
PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE/INDICADORES	METODOLOGÍA
General: ¿Cuál será el efecto de los medios de cultivo en la micropropagación de <i>A. rosaeodora</i> Ducke <i>In Vitro</i> mediante yemas apicales?	General Determinar el efecto de los medios de cultivo en la micropropagación de la especie <i>A. rosaeodora</i> <i>in vitro</i> mediante yemas apicales.	General El uso de los diferentes medios de cultivo en la Micropropagación de <i>A. rosaeodora</i> , mediante yemas apicales tienen un efecto positivo, permitiendo su establecimiento y desarrollo.	Variable independiente Concentración de sales minerales: Murashige & Skoog Nivel de sacarosa Reguladores de crecimiento: Auxina (AIA) Citoquinina (BAP) Giberelinas (AG3)	Enfoque Mixto con alcance longitudinal Diseño experimental Nivel explicativo Tipo aplicada Métodos Factorial AXB
Específicos	Específicos	Específicos	Dimensiones Sales minerales 50% 100% Sucrose 20gr 30gr 40gr Reguladores de crecimiento BAP 1,0 mg/L ⁻¹ 3,0 mg/L ⁻¹ 5,0mg/L ⁻¹	Técnicas instrumentales De muestreo Tratamiento antiséptico antes de ingreso a laboratorio Recolección de explantes.
PE1. ¿Cuál será la mejor concentración optima de sales minerales en la micropropagación <i>in vitro</i> de especie <i>A. rosaeodora</i> ?	OE1. Evaluar el efecto de la concentración de sales minerales en la micropropagación <i>in vitro</i> de <i>A. rosaeodora</i> .	H1: La aplicación de un protocolo de asepsia eficiente reduce significativamente la contaminación de las yemas apicales de <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke durante la fase de establecimiento <i>in vitro</i> . H2: Los diferentes tratamientos de sales minerales y niveles de sacarosa influyen significativamente en la tasa de supervivencia de las yemas apicales de <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke durante la fase de establecimiento <i>in vitro</i> .		De Recolección de datos Observación y medición de variables
PE2. ¿Cuál será la mejor concentración de los reguladores de crecimiento en la micropropagación <i>in vitro</i> de la especie de <i>A. rosaeodora</i> ?	OE2. Evaluar el efecto de la concentración optima de los reguladores de crecimiento en la micropropagación <i>in vitro</i> de <i>A. rosaeodora</i> .			

PE3. ¿Cuál será el mejor nivel de concentración de sacarosa en la micropropagación <i>in vitro</i> de la especie de <i>A. rosaeodora</i>? PE4. ¿Cuál será la interacción y concentración optima de los medios de cultivo en la micropropagación <i>in vitro</i> de <i>A. rosaeodora</i>?	OE3. Evaluar el efecto respuesta de los niveles de sacarosa en la micropropagación <i>in vitro</i> de <i>A. rosaeodora</i>. OE4. Determinar la interacción y concentración optima de los medios de cultivo en la micropropagación <i>in vitro</i> de <i>A. rosaeodora</i>.	H3: La interacción entre las concentraciones de reguladores de crecimiento influye significativamente en la multiplicación de brotes y el enraizamiento de <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke. Justificación La investigación se justifica por la importancia de la micropropagación <i>in vitro</i> como herramienta esencial para la conservación de especies amenazadas y la biodiversidad. En el caso de <i>A. rosaeodora</i>, de alto valor medicinal y aromático, es clave optimizar sus medios de cultivo para garantizar una propagación eficiente y sostenible, especialmente en el contexto peruano.	AIB 0,5 mg/L⁻¹ 1,0 mg/L⁻¹ 1,5mg/L⁻¹ ANA 1,0 mg/L⁻¹ 2,0 mg/L⁻¹ 3,mg/L⁻¹ Indicadores Sales minerales: % Sucrose: Gr Reguladores de crecimiento: Mg/l Variable independiente Yemas apicales de <i>A. rosaeodora in vitro</i> Dimensiones % de supervivencia % de contaminación Altura de explante Número de hojas Número de brotes Indicadores % % Cm N° N	De análisis Prueba de Kruskal-Wallis <i>Pruebas post hoc</i> <i>Pruebas de normalidad</i> <i>Pruebas de tukey</i> Población 300 plantones presentes en el invernadero del CITE-Madre de Dios. Muestra 3 explantes por unidad experimental total 210 plantones. Procedimiento - Fase de invernadero - Fase de laboratorio
--	--	---	--	--

Anexo 2 Instrumento de recolección de datos

[illegible]

Nota. Elaboración propia.

Anexo 3 Solicitud de autorización para realización del estudio



SERFOR

Firmado digitalmente por PEZO RUIZ
Gian Carlo FAU 20563836627 soft
Cargo: Director
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 15.04.2025 16:31:42 -05:00

RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Magdalena Del Mar, 15 de Abril del 2025

RD N° D000076-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF

VISTOS:

La carta s/n, registrada con número de expediente 2025-0005505, de fecha 21 de febrero del 2025, conteniendo la solicitud de autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de áreas naturales protegidas (ANP), presentada por el señor **JIMMY JEANINE MIRÓ AGURTO** (el administrado), de nacionalidad peruana, identificado con DNI N° 00246392, investigador de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios – UNAMAD, así como, el Informe Técnico N° D000189-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF de fecha 14 de abril del 2025, y;

CONSIDERANDO:

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

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

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

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

Que, según lo dispuesto por el artículo 140° de la Ley en mención, señala que el SERFOR evalúa y otorga la autorización para extracción de recursos forestales y de fauna silvestre con fines de investigación científica cuando: (i) se incluye especies

Firmado digitalmente por
MERCADO VELASQUEZ Luis
Giovanni FAU 20562836627 soft
Motivo: Soy "Y" SI
Fecha: 15.04.2025 12:26:19 -05:00

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: QYD55MG



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

amenazadas^{1,2}, (ii) especies consideradas en los Apéndices de CITES³, (iii) se realiza acceso a recursos genéticos sin fines de lucro; y (iv) propósitos culturales;

Que, mediante el artículo 1° de la Resolución de Dirección General N° D000627-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS, de fecha 15 de noviembre del 2021, la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre (DGGSPFFS) del SERFOR resolvió delegar en la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal (DGSPF), la función de otorgar permisos de investigación o de difusión cultural con o sin colecta de flora silvestre y sus recursos genéticos, contenida en el literal g), del artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI y modificado por Decreto Supremo N° 016-2014-MINAGRI; delegación efectuada en aplicación del numeral 78.1 del artículo 78° del Texto Único Ordenado - TUO de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS;

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

Que, en ese contexto mediante carta s/n, registrada con número de expediente 2025-0005505 de fecha 05 de febrero del 2025, a través de la mesa de partes virtual del SERFOR, el administrado solicitó a la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal (DGSPF) la autorización de investigación científica de flora silvestre para realizar el proyecto denominado: **Efecto de diferentes medios de cultivo en micropropagación de *Aniba roseodora* Ducke (palo rosa) mediante yemas apicales, provincia Tambopata-Madre de Dios**; investigación que contempla la colecta de especímenes de flora silvestre;

Que, mediante carta N° D000305-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF de fecha 21 de febrero del 2025, la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal remitió al administrado las siguientes observaciones: a) explicar cómo se realizará la identificación taxonómica de la especie, a fin de tener certeza del nombre científico del material biológico a estudiar; b) no ha presentado el documento que acredite la compra de las plántulas de palo rosa por parte de la UNAMAD o del administrado a la referida organización, por lo cual, conforme a lo establecido en el artículo 168 del Reglamento para la Gestión Forestal, se solicita acreditar el origen legal del material biológico adquirido y c) en el numeral 8.2. Cronograma de trabajo, incluir las actividades de identificación taxonómica de la especie (de corresponder) y presentación del informe final como resultado de la autorización otorgada;

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

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

³ Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Que, mediante carta s/n, de fecha 26 de marzo del 2025, registrada con expediente 2025-0014157, el administrado remitió a la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal el levantamiento de observaciones;

Que, de acuerdo con el artículo 140° de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, Ley N° 29763, es competencia del SERFOR la evaluación de la presente solicitud puesto que la investigación se desarrollará fuera del ámbito de ANP, asimismo, implica el estudio de una especie amenazada;

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

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

Que, en ese sentido, la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal a través del Informe Técnico N° D000189-2025-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF de fecha 14 de abril del 2025; concluye que la solicitud de investigación científica presentada por el administrado cumple con los requisitos contemplados en el Procedimiento PA1110EE32 del Texto Único de Procedimientos Administrativos (TUPA) del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 012-2024-MIDAGRI, concordantes con los Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre, aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, así como, con las condiciones mínimas y los criterios técnicos para su ejecución, considerándose procedente el plazo propuesto para el desarrollo de las actividades con fines de investigación de flora silvestre, con colecta, por el periodo de dieciocho (18) meses;

Que, asimismo, dicho Informe Técnico recomienda la emisión del acto administrativo que aprueba la solicitud de investigación científica de flora silvestre, fuera de ANP, para el desarrollo del proyecto denominado titulado: **Efecto de diferentes medios de cultivo en micropropagación de *Aniba rosaeodora* Ducke (palo rosa) mediante yemas apicales, provincia Tambopata-Madre de Dios**; la investigación permitirá conocer los efectos de los diferentes medios de cultivo en la micropropagación de *A. rosaeodora*, generando conocimientos aplicables a la conservación de esta especie y, posiblemente, a otras en peligro o de interés económico y medicinal;

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: QYD5SMG



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

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

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

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

- a. *Comunicar con la debida anticipación a la Gerencia Regional Forestal y de Fauna Silvestre del Gobierno Regional Madre de Dios, el inicio de la investigación.*
- b. *Indicar el número de la resolución en las publicaciones generadas a partir de la autorización concedida.*
- c. *Solicitar anticipadamente ante la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal del SERFOR y dentro del periodo del cronograma de trabajo del plan de investigación, cualquier cambio en las características del estudio aprobado (por ejemplo, cronograma, inclusión de investigadores, etc.), que demande la modificación de la presente resolución.*
- d. *En caso sobrevenga algún hecho o evento que imposibilite la ejecución de la investigación autorizada o que origine que no se pueda continuar con el desarrollo de la misma, corresponde al administrado solicitar por escrito ante la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal del SERFOR, la renuncia a la autorización otorgada; renuncia que deberá ser solicitada dentro del plazo de vigencia de la autorización, precisándose el hecho o evento que origina la imposibilidad de ejecutar o de continuar ejecutando la investigación aprobada, debiendo además el administrado adjuntar la documentación de sustento que estime necesaria, de ser el caso.*
- e. *Todos los ejemplares propagados como producto de la investigación, en el invernadero del Instituto Tecnológico de la Producción- CITEproductivo Madre de Dios serán entregados mediante un acta de entrega a la Gerencia Regional Forestal y de Fauna Silvestre del Gobierno Regional Madre de Dios, en su calidad de Autoridad Regional Forestal y de Fauna Silvestre, indicando la cantidad de yemas apicales propagadas, mortandad y éxito de ejemplares, tamaño, nombre científico, entre otros parámetros de estudio.*

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



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

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

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

Que, en adición a ello, debemos precisar que, una autorización para realizar estudios de investigación no habilita el ingreso a predios privados, en cuyos casos, deberán gestionar la autorización de ingreso correspondiente ante la autoridad o titular del área, según corresponda;

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

Que, de conformidad con la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, aprobada por Ley N° 29763; el Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI; el TUPA del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 012-2024-MIDAGRI; los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre", aprobados mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; el literal g) del Artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI y su modificatoria mediante Decreto Supremo N° 014-2016-MINAGRI; el TUO de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS; así como, en ejercicio de la función delegada a través del artículo 1° de la Resolución de Dirección General N° D000627-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- OTORGAR la Autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de áreas naturales protegidas, al señor **JIMMY JEANINE MIRÓ AGURTO**, identificado con DNI N° 00246392, correspondiéndole el Código de Autorización **N° AUT-IFL-2025-038**; para el desarrollo del proyecto titulado: **Efecto de diferentes medios de cultivo en micropropagación de *Aniba rosaeodora* Ducke (palo rosa) mediante yemas apicales, provincia Tambopata-Madre de Dios**; que se realizará en el distrito y provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios; en conformidad con lo señalado en la Tabla N° 1 del **ANEXO 1**; cuya vigencia se contabilizará desde la fecha de emisión de la presente resolución⁴.

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

Artículo 3.- El administrado se encuentra sujeto al cumplimiento de lo presentado en el plan de investigación evaluado y al plazo correspondiente a dieciocho (18) meses, así como el material biológico de flora silvestre de acuerdo con lo señalado en el **ANEXO 3**. Las yemas apicales de *Aniba rosaeodora*, serán obtenidas del

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

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



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

invernadero CITE productivo - MDD. El trabajo de investigación se realizará en el Laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales del CITE Productivo Madre de Dios, ubicado en el distrito y provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios. Asimismo, deberán cumplir con las obligaciones establecidas en la legislación forestal y de fauna silvestre, según lo señalado en la parte considerativa de la presente resolución.

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

Artículo 5.- La presente autorización no limita el ejercicio de las funciones y/o requisitos de las entidades, en los ámbitos en los que se realice la investigación (ARFFS, ACR, ACP y otros).

Artículo 6.- La solicitud de modificación de Autorización en el desarrollo de la investigación será comunicada al SERFOR dentro del plazo de vigencia de la presente resolución.

Artículo 7.- La presente autorización no habilita la exportación de muestras biológicas, en caso se requiera realizar esta actividad, el administrado y los investigadores identificados en la presente resolución, podrán gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR.

Artículo 8.- La contravención a las obligaciones y/o condiciones establecidas en la presente resolución conllevará a la comisión de la infracción tipificada en el numeral 5) del Anexo 1 del Cuadro de Infracciones y Sanciones en materia forestal, aprobado mediante el Decreto Supremo N° 007-2021-MIDAGRI. Cabe mencionar que el material biológico colectado no podrá ser utilizado para fines distintos a lo autorizado, bajo apercibimiento de configurarse el supuesto establecido en la mencionada normativa. En caso de realizar investigaciones para otros fines con el material autorizado, se deberá solicitar una nueva autorización.

Artículo 9.- Notificar la presente resolución directoral al administrado; a efectos de que tome conocimiento de su contenido.

Artículo 10.- Remitir la presente resolución a la Dirección de Control de la Gestión del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre y a la Gerencia Regional Forestal y de Fauna Silvestre del Gobierno Regional Madre de Dios, para que actúen de acuerdo a sus competencias en materia de supervisión y fiscalización; al Instituto Tecnológico de la Producción- CITEproductivo Madre de Dios para conocimiento, asimismo, la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal deberá cargar la presente resolución en el Directorio de la Dirección de Información y Registro.

Artículo 11.- Disponer la publicación de la presente resolución en el portal web del SERFOR: www.gob.pe/serfor

Regístrese y comuníquese,

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: QYD55MG



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Documento Firmado Digitalmente

GIAN CARLO PEZO RUIZ

Director

Dirección de Gestión Sostenible del
Patrimonio Forestal

Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: QYD55MG



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

ANEXO 1

Tabla N° 1. Coordenada UTM donde se desarrollará la investigación

Localidad	Distrito	Provincia	Departamento	Coordenadas UTM WGS 84. ZONA 19	
				Este	Norte
Sede del CITE productivo Madre de Dios	Tambopata	Tambopata	Madre de Dios	0478905	8607585

ANEXO 2

Tabla N° 2. Datos de los investigadores que participarán en la presente investigación

Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Documento de identidad	Participación en el proyecto	Institución que respalda a los investigadores
Jimmy Jeanine Miró Agurto	Peruana	00246392	Investigador principal	Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios
Doriza Huaman Condori	Peruana	77081182	Tesista	
Olegario Robles Cueva	Peruana	40440982	Colaborador	Instituto Tecnológico de la Producción-CITEproductivo Madre de Dios

ANEXO 3

Tabla N° 3. Detalle del material biológico de flora silvestre

Familia	Nombre científico	Nombre común	Tipo de muestra	Cantidad de muestra (por especie)	Finalidad de la colecta
Lauraceae	<i>Aniba rosaeodora</i> Ducke	Palo rosa	Yemas apicales	210	Micropropagación clonal



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

ANEXO 4

FORMATO DE INFORME FINAL

Como parte del cumplimiento de obligaciones adquiridas en el marco de la autorización de investigación científica de flora y/o fauna silvestre, fuera de áreas naturales protegidas, el(la) administrado(a) deberá presentar la siguiente información:

- a. Indicar el número de la Resolución Directoral que autorizó la investigación y el(los) número(s) de resolución de modificación, de corresponder. Tener en cuenta que el título del proyecto debe coincidir con la autorización otorgada.
- b. Resumen para ser publicado en la web del SERFOR (donde se deberá señalar los resultados y la relevancia del estudio, entre otros, de forma sintetizada respecto de lo encontrado en la investigación realizada, hasta 3000 caracteres o 500 palabras). Se adjunta un modelo en el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1E0Y-u0UdEjwy1p76GhhiKC7AaOTYPwyH?usp=drive_link
- c. Resultados (Se debe indicar los resultados más relevantes tomando en cuenta los objetivos planteados para la investigación).
- d. Conclusiones (En esta sección se deberá incorporar los enunciados generados producto del análisis de resultados, los cuales responderán las interrogantes u objetivos planteados).
- e. Anexos
 - ✓ Adjuntar la(s) copia(s) de las(s) constancia(s) de depósito del material biológico⁵, en caso de haber realizado colectas. La(s) constancia(s) deberá(n) ser emitida(s) por una institución científica nacional depositaria de material biológico-ICNDMB, registrada por el SERFOR. Si desea visualizar el registro de ICNDMB autorizadas, puede ingresar al siguiente enlace: <https://sniffs.serfor.gob.pe/estadistica/es/tableros/recursos-geneticos/instituciones-cientificas-nacionales-depositarias-de-material-biologico>
 - ✓ Material fotográfico, en formato original. Se resguardará los derechos de autor.
 - ✓ Adjuntar las autorizaciones de ingreso a territorios comunales, ACR, ACP, títulos habilitantes, predios rurales cuando corresponda.
 - ✓ Listado taxonómico de las especies de flora y/o fauna silvestre objeto de investigación (colectadas, capturas temporalmente, registros mediante registros directos e indirectos, etc.), de acuerdo con el formato indicado en el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1E0Y-u0UdEjwy1p76GhhiKC7AaOTYPwyH?usp=drive_link
 - ✓ En caso de no haber realizado colectas, remitir la información del ámbito de estudio, de acuerdo con el formato indicado en el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1E0Y-u0UdEjwy1p76GhhiKC7AaOTYPwyH?usp=drive_link
 - ✓ Entregar la(s) publicación(es), producto de la investigación realizada en formato digital, (se podrá adjuntar el enlace de acceso al artículo, DOI, etc.) o de lo contrario señalar que no cuenta con publicación. En caso de contar con publicación de tesis de pre o posgrado, indicar el enlace del repositorio en donde se encuentra depositado.

La información podrá ser entregada en formato digital a través de la Mesa de Partes Virtual (<https://apps.serfor.gob.pe/mesadepartevirtual/#/>) o físico en formato impreso en mesa de partes presencial del SERFOR (Av. Javier Prado Oeste 2442, Magdalena del Mar).

⁵ Artículo 155 y el Artículo 135 del Reglamento para la Gestión Forestal y el Reglamento para la Gestión de Fauna Silvestre, aprobados con Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI y Decreto Supremo N° 019-2015-MINAGRI, respectivamente; señalan que el material biológico colectado debe ser depositado en Instituciones Científicas Nacionales registradas ante el SERFOR.

Anexo 4 Evidencia fotográfica del esquema metodológico de la investigación



Anexo 5 Evidencia fotográfica de los resultados obtenidos por tratamientos

a) Explantes Asépticos de *Aniba rosaeodora*



b) Explantes con bacteria y hongos de *Aniba rosaeodora*



c) Explantes de la fase de multiplicación de *Aniba rosaeodora* (Tratamiento 3: BAP 5 mg; IBA 1.5 mg)



d) Explantes de la fase de multiplicación de *Aniba rosaeodora* (Tratamiento 3: BAP 5 mg; IBA 1,5 mg)



e) Explantes de la fase de enraizamiento



f) Explantes en oxidación donde ninguno sobrevivió



Anexo 6 Constancia de identificación botánica de la especie estudiada



UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZONICA DE MADRE DE DIOS
Centro Investigación del Herbario Alwyn Gentry
"Madre de Dios, Capital de la Biodiversidad del Perú"
Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana



CONSTANCIA

En mi calidad de Director del Centro de Investigación Herbario "Alwyn Gentry" de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios,

HACE CONSTAR:

Que las muestras botánicas han sido presentadas en marco de la tesis de pregrado de la Bach. **Doriza Huaman Condori**, titulada: "Efecto de diferentes medios de cultivo en micropropagación de *Aniba rosadora* Ducke (palo rosa) mediante yemas apicales, provincia Tambopata-Madre de Dios" para optar el título de Ingeniero Forestal y medio ambiente en la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios.

El ejemplar ha sido entregado a la colección del herbario y constan de 03 especímenes que proviene del Fundo vivero camino verde, La joya, Distrito Tambopata, Region Madre de Dios, Las cuales fueron verificadas e identificadas en este Centro de enseñanza e Investigación HAG-UNAMAD. A continuación, se adjunta el cuadro de información de la especie.

Nº	Código de Colecta	Nombre científico	Familia Según APG IV (2016)	Coordenada UTM
1	D Huaman - 001	<i>Aniba rosodora</i> Ducke	Lauraceae	W 12633994 O 869213308

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que considere conveniente.

Puerto Maldonado, 25 de marzo de 2025.

Atentamente


Dra. Siller Haver Quijano

Anexo 7 Composición del medio del cultivo

Tabla 19

Composición del medio de cultivo para establecimiento

COMPONENTES	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Murashige skoot + vitam. A1 100%	2.21 gr	2.21 gr	2.21 gr	4.43 gr	4.43 gr	4.43 gr
Sucrose	20gr	30gr	20gr	20gr	30gr	40gr
Tiamina	0.4mg/l	0.4mg/l	0.4mg/l	0.4mg/l	0.4mg/l	0.4mg/l
Acid. Ascorbico	10mg/l	10mg/l	10mg/l	10mg/l	10mg/l	10mg/l
Ppm	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml
Ph	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
Agar	6gr	6gr	6gr	6gr	6gr	6gr

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

Tabla 20

Composición de medio de cultivo de multiplicación

COMPONENTES	T1	T2	T3
Murashige skoog + vitam	4.33 gr	4.33 gr	4.33 gr
Sucrose	30gr	30gr	30gr
Pantetonato	1ml	1ml	1ml
Iba	0.5 mg/l	1mg/l	1.5 mg/l
Bap	1ml	3mg/l	5mg/l
C. A	2mg/l	sin carbon	2mg/l
Pvp	2gr/L	2gr/L	2gr/L
Nitrato de potasio	1.9 gr/l	1.9 gr/l	1.9 gr/l
pH	5.7	5.7	5.7
Agar	6 gr	7 gr	8 gr

Nota. Resultados del procesamiento de datos.

Tabla 21

Composición de medio de cultivo de enraizamiento

COMPONENTES	T1	T2	T3
Murashige skoog + vitam	4.33 gr	4.33 gr	4.33 gr
Sucrose	30gr	30gr	30gr
Tiamina	2ml	1ml	1ml
Pantetonato	2mg/l	2mg/l	2mg/l
Ana	1mg/l	2mg/l	3mg/l
pH	5.7	sin carbon	2mg/l
Agar	6 gr	6 gr	6 gr

Nota. Resultados del procesamiento de datos.