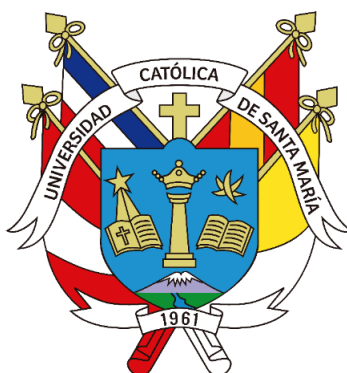


Universidad Católica de Santa María

**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas**

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



Efecto de los extractos de microalgas (*Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis*) en cultivo in vitro de híbridos de orquídeas: *Phalaenopsis* y *Epicattleya*

Tesis presentada por la Bachiller:

Flores Neyra, Lency Nashira

ORCID: 0009-0009-0915-1693

Para optar el Título Profesional de Ingeniera Biotecnóloga

Asesor(a):

Dra. Bardales Álvarez, Roxana Margarita

ORCID: 0000-0002-5137-4067

Arequipa – Perú

2025

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 17 de Agosto del 2025

Dictamen: 013564-C-EPIB-2025

Visto el borrador del expediente 013564, presentado por:

2019243082 - FLORES NEYRA LENCY NASHIRA

Titulado:

**EFEECTO DE LOS EXTRACTOS DE MICROALGAS (CHLORELLA VULGARIS Y ARTHROSPIRA
PLATENSIS) EN CULTIVO IN VITRO DE HÍBRIDOS DE ORQUÍDEAS: PHALAENOPSIS Y
EPICATTLEYA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

INGENIERO BIOTECNOLOGO

**29520165 - TORRES VELA FERNANDO ANTERO
DICTAMINADOR**



**43085216 - MEDINA CABRERA EDILBERTO VICENTE
DICTAMINADOR**



**71093620 - JOHNSON CORRALES FABRIZIO
DICTAMINADOR**



EFFECTO DE LOS EXTRACTOS DE MICROALGAS (CHLORELLA VULGARIS Y ARTHROSPIRA PLATENSIS) EN CULTIVO IN VITRO DE HÍBRIDOS DE ORQUÍDEAS: PHALAENOPSIS Y EPICATTLEYA

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%

INDICE DE SIMILITUD

10%

FUENTES DE INTERNET

8%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.dspace.uce.edu.ec

Fuente de Internet

1%

2

repositorio.unapiquitos.edu.pe

Fuente de Internet

1%

3

repositorio.umsa.bo

Fuente de Internet

1%

4

repository.unad.edu.co

Fuente de Internet

1%

5

tesis.ipn.mx

Fuente de Internet

1%

6

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

7

dspace.uclv.edu.cu

Fuente de Internet

1%

8

repositorio.unheval.edu.pe

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

< 1%

Excluir bibliografía

Apagado

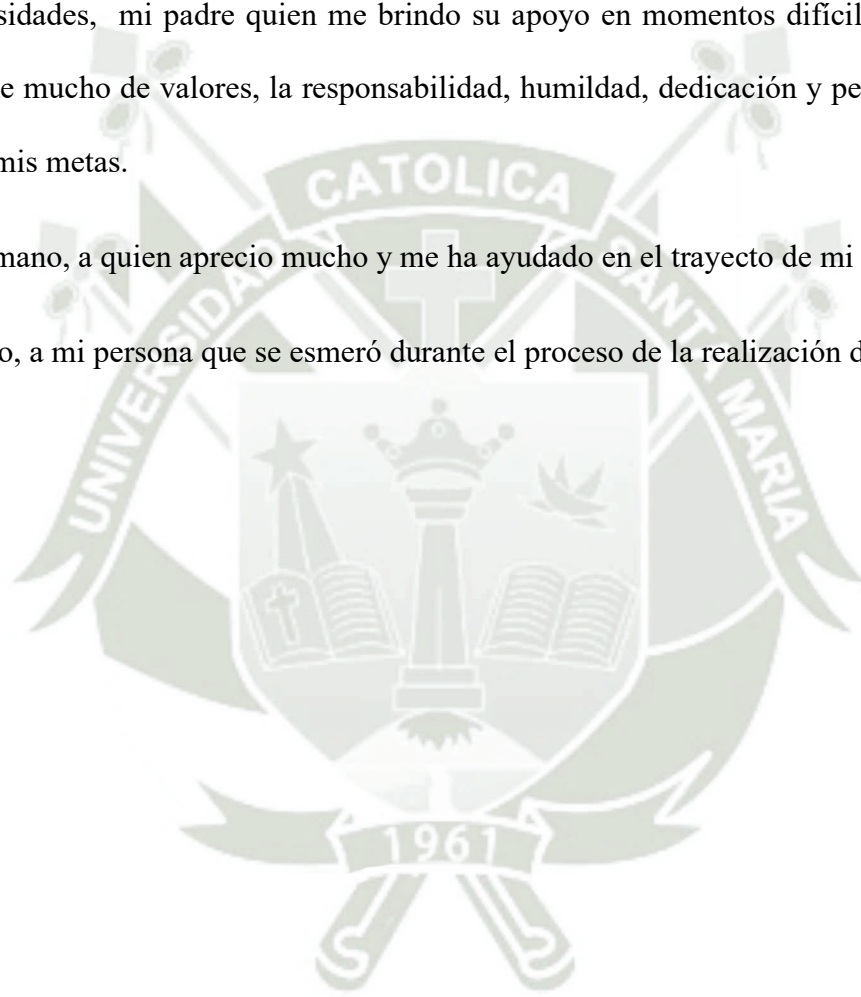
Dedicatoria

Este trabajo de investigación está dedicado, primer ante a la Virgencita de Chapi, por regalarme la fe, para cumplir mis objetivos.

A mi querida madre quien, con su apoyo incondicional, motivación y cariño me ayudo a superar las adversidades, mi padre quien me brindo su apoyo en momentos difíciles, a los dos por enseñarme mucho de valores, la responsabilidad, humildad, dedicación y perseverancia, para alcanzar mis metas.

A mi hermano, a quien aprecio mucho y me ha ayudado en el trayecto de mi vida.

Por último, a mi persona que se esmeró durante el proceso de la realización del proyecto



Agradecimientos

Quisiera expresar mi gratitud en primer lugar a la empresa Boniplant por haberme brindado la oportunidad de realizar el proyecto en sus laboratorios, también a la Ingeniera María Rivas Herrera quien con su apoyo y guía me ayudó a elaborar este trabajo. Asimismo, a mi familia en especial a mis padres, mi hermano, mi abuelita y mi tía por estar siempre apoyándome durante toda mi carrera.



RESUMEN

El aumento del comercio de las plantas ornamentales en la actualidad como la familia Orchidaceae en especies como *Phalaenopsis* y *Epicattleya*, se ha debido a lo poco común que son, ya que no hay presencia de estas especies híbridas en este género en Perú, lo que ha generado el aumento del comercio como la realización de la innovación de nuevos protocolos de cultivo *in vitro* para su masificación en laboratorios sobre todo en especies híbridas que son generadas a partir de programas de mejoramiento genético, es por este sentido que el objetivo de esta investigación es evaluar el efecto del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis* como suplemento en las diferentes Concentraciones del medio de cultivo Murashige y Skoog en cultivos *in vitro* de la familia de las orquídeas en híbridos *Phalaenopsis* y *Epicattleya*; realizado en el laboratorio de cultivo *in vitro* en Boniplant, con la preparación de los distintos medios de concentración de Murashige y Skoog más el suplemento del extracto acuoso de las microalgas, con la eliminación de las raíces de los híbrido con sumo cuidado y posterior siembra en los medios *in vitro*; los cuales han sido evaluados mediante un diseño de bloques completamente al azar para ver los efectos de los extractos como la dosificación en los diferentes medios de concentración de Murashige y Skoog, como también el crecimiento de raíces y brotes producidos por la estimulación de los extractos microalgales, los cuales han tenido resultados positivos, como en el crecimiento de raíces, alto y ancho de los explantes en ambas especies y negativos en el crecimiento de brotes en la especie *Phalaenopsis*, pero mejor respuesta en la especie *Epicattleya*. Es por ello por lo que se concluye que el uso de los diferentes extractos en sus distintas Concentraciones como el diferente tipo de medio Murashige y Skoog, ha tenido un efecto bioestimulante en el crecimiento de los explantes de las especies híbridas.

Palabras claves: Bioestimulantes, cultivo *in vitro*, extractos microalgales.

ABSTRACT

The increase in trade of ornamental plants nowadays as the Orchidaceae family in species such as *Phalaenopsis* and *Epicattleya*, has been due to how uncommon they are, since there is no presence of these hybrid species in this genus in Peru, which has generated the increase of trade as the realization of the innovation of new in vitro culture protocols for its massification in laboratories especially in hybrid species that are generated from genetic improvement programs, It is for this reason that the objective of this research is to evaluate the effect of the microalgal extract of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* as a supplement in different concentrations of the Murashige y Skoog culture medium in in vitro cultures of the orchid family in hybrids *Phalaenopsis* and *Epicattleya*; carried out in the in vitro culture laboratory at Boniplant, with the preparation of the different Murashige y Skoog concentration media plus the supplement of the aqueous extract of the microalgae, with the removal of the roots of the hybrids with great care and subsequent sowing in the in vitro media; which have been evaluated through a completely randomized block design to see the effects of the extracts as the dosage in the different Murashige y Skoog concentration media, as well as the growth of roots and shoots produced by the stimulation of the microalgal extracts, which have had positive results, as in root growth, height and width of the explants in both species and negative in the growth of shoots in the *Phalaenopsis* species, but better response in the *Epicattleya* species. It is therefore concluded that the use of the different extracts in their different concentrations as well as the different type of Murashige y Skoog medium, has had a biostimulants effect on the growth of the explants of the hybrid species.

Key words: Biostimulants, in vitro culture, microalgal extracts.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria

Agradecimientos

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN 1

HIPÓTESIS..... 3

OBJETIVOS 4

GENERAL 4

ESPECÍFICOS..... 4

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES 5

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO 6

1.1 Las orquídeas 6

1.1.1 Morfología floral..... 6

1.1.2 Morfología vegetativa..... 7

1.1.3 Selección genética..... 8

1.1.4 Cultivo de tejidos vegetales 8

1.1.5 Cultivo in vitro..... 9

1.1.6 Enraizamiento in vitro..... 10

1.1.7 Híbridos..... 10

1.1.8 Phalaenopsis..... 12

1.1.9 Epidendrum Pseudepidendrum 14

1.1.10 Cattleya violácea..... 15

1.1.11 Bioestimulantes..... 16

1.1.12 Microalgas..... 17

1.1.13 Extracto de microalgas..... 18

1.1.14	Chlorella vulgaris.....	18
1.1.15	Arthrospira platensis	20
1.1.16	Microalgas como bioestimulantes.....	21
1.1.17	Fitohormonas que imitan compuestos de microalgas	22
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS		25
2.1	Lugar de la investigación (Ámbito geográfico):.....	25
2.2	Materiales:.....	25
2.2.1	Material vegetal	25
2.2.2	Material del medio de cultivo in vitro.....	25
2.2.3	Material de vidrio y porcelana	26
2.2.4	Equipos y otros	26
2.2.5	Software	27
2.3	Métodos:	27
2.3.1	Preparación del extracto acuoso de microalga.....	27
2.3.2	Esterilización y autoclavado de materiales para el cultivo in vitro	27
2.3.3	Preparación de los medios de cultivo in vitro para Phalaenopsis hibrida y Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya	28
2.3.4	Cultivo in vitro de brotes de Phalaenopsis hibrida y Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea	29
2.3.5	Control de los explantes semanal.....	29
2.3.6	Factores y niveles en estudio	29
2.3.7	Tratamientos	30
2.4	Diseño experimental	33
2.5	Evaluaciones	34
2.6	Disposición de los brotes	34
2.7	Grosor de raíces	35
2.8	Diagrama de flujo de actividades.....	35
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN		37

3.1	Evaluar el efecto bioestimulante a base de microalgas: <i>C. vulgaris</i> y <i>A. platensis</i> en el cultivo in vitro de <i>Phalaenopsis hybrida</i> y <i>Epicattleya</i> . .37
3.2	<i>Phalaenopsis</i>37
3.2.1	Numero de hojas37
3.2.2	Numero de raíces41
3.2.3	Crecimiento radicular.....45
3.2.4	Grosor de raíz.....47
3.2.5	Alto de los explantes49
3.2.6	Ancho de los explantes51
3.2.7	Número brotes.....53
3.2.8	Disposición de brotes.....53
3.3	<i>Epicattleya</i>53
3.3.1	Número de hojas53
3.3.2	Número de raíces58
3.3.3	Crecimiento radicular.....61
3.3.4	Grosor de raíz.....63
3.3.5	Alto de los explantes.....65
3.3.6	Ancho de los explantes68
3.3.7	Numero brotes.....70
3.3.8	Disposición de brotes.....72
CONCLUSIONES73	
RECOMENDACIONES74	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....75	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Cuadro de variables en la experimentación	5
Tabla 2 Clasificación taxonómica de Phalaenopsis	13
Tabla 3 Clasificación taxonómica de Epidendrum	14
Tabla 4 Clasificación taxonómica de Cattleya violácea	15
Tabla 5 Tabla 5 Chlorella vulgaris taxonomía. Elaboración propia	19
Tabla 6 Arthrospira platensis taxonomía. Elaboración propia.....	21
Tabla 7 Tratamientos de Phalaenopsis híbrida con medio MS completo	30
Tabla 8 Tratamientos de Phalaenopsis híbrida con medio ½ MS.....	31
Tabla 9 Tratamientos de Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea s/a con medio MS completo	32
Tabla 10 Tratamientos de Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea s/a con medio ½ MS	32
Tabla 11 Análisis de varianza para el numero de hojas con la Concentración completa de medio MS	37
Tabla 12 Análisis de varianza para el numero de hojas con la ½ de concentración de medio MS	38
Tabla 13 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Número de hojas con intervalos de confianza del 95.0%	39
Tabla 14 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de hojas por Dosis	39
Tabla 15 Análisis de varianza para el numero de raíces con la Concentración completa de medio MS	41
Tabla 16 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Número de raíces con intervalos de confianza del 95.0%	42
Tabla 17 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de raíces por Dosis	42

Tabla 18 Análisis de varianza para el numero de raíces con la $\frac{1}{2}$ de concentración de medio MS	44
Tabla 19 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces con la Concentración completa de medio MS	45
Tabla 20 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS.....	46
Tabla 21 Análisis de varianza para el alto de los explantes con la Concentración completa de medio MS	49
Tabla 22 Análisis de varianza para el alto de los explantes con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS	50
Tabla 23 Análisis de varianza para el ancho de los explantes con la Concentración completa de medio MS	51
Tabla 24 Análisis de varianza para el ancho de los explantes con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS.....	52
Tabla 25 Análisis de varianza para el numero de hojas en Epicattleya con la Concentración completa de medio MS	54
Tabla 26 Análisis de varianza para el numero de hojas en Epicattleya con la $\frac{1}{2}$ de concentración de medio MS	55
Tabla 27 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Número de hojas en Epicattleya con intervalos de confianza del 95.0%	55
Tabla 28 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de hojas en Epicattleya por Dosis	56
Tabla 29 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de hojas en Epicattleya por Extractos	57
Tabla 30 Análisis de varianza para el numero de raíces de Epicattleya con la Concentración completa de medio MS	58

Tabla 31 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de raíces en Epicattleya	
por Extractos	59
Tabla 32 Análisis de varianza para el numero de raíces de Epicattleya con la $\frac{1}{2}$	
Concentración de medio MS.....	60
Tabla 33 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces de	
Epicattleya con la Concentración completa de medio MS	61
Tabla 34 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces de	
Epicattleya con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS	62
Tabla 37 Análisis de varianza para el alto de los explantes de Epicattleya	
con la Concentración completa de medio MS	65
Tabla 38 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para el alto de los	
explantes de Epicattleya con intervalos de confianza del 95.0%.....	66
Tabla 39 Pruebas de múltiple para el alto de los explantes de Epicattleya	
por Extractos	66
Tabla 40 Análisis de varianza para el alto de los explantes de Epicattleya	
con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS	67
Tabla 41 Análisis de varianza para el ancho de los explantes de Epicattleya	
con la Concentración completa de medio MS	68
Tabla 42 Análisis de varianza para el ancho de los explantes de Epicattleya	
con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura floral, <i>Cymbidium</i> (Díaz Toribio 2013).....	7
Figura 2 <i>Chlorella vulgaris</i> . Elaborado (40)	18
Figura 3 <i>Arthrospira platensis</i> . Elaborado por Ramakrishnan R. (46)	20
Figura 4 Disposición de brote profundo en <i>Epicattleya</i>	34
Figura 5 Clasificación de raíces según el grosor en híbrido <i>Phalaenopsis</i>	35
Figura 6 Clasificación de raíces según el grosor en híbrido <i>Epicattleya</i>	35
Figura 7 Diagrama de flujo del cultivo in vitro	36
Figura 8 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el número de hojas con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos...	38
Figura 9 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el número de hojas con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	40
Figura 10 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de raíces con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos...	43
Figura 11 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de raíces con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	44
Figura 12 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	46
Figura 13 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	47
Figura 14 Grosor de raíces en el medio MS completo de la especie hybrida <i>Phalaenopsis</i>	48

Figura 15 Grosor de raíces en ½ Concentración de medio MS de la especie hybrida Phalaenopsis.....	48
Figura 16 Grosor de raíces de los controles en los diferentes tipos medios en especie hybrida Phalaenopsis.....	48
Figura 17 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos...	49
Figura 18 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos....	50
Figura 19 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el ancho de los explantes con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	51
Figura 20 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el ancho de los explantes con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos....	52
Figura 21 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de hojas en Epicattleya con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	54
Figura 22 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de hojas en Epicattleya con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	57
Figura 23 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de raíces de Epicattleya con la concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	59
Figura 24 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de raíces de Epicattleya con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B)Extractos	60

Figura 25 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces de Epicattleya con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos.....	61
Figura 26 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces de Epicattleya con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	62
Figura 27 Grosor de raíces con la Concentración completa de medio MS de la especie hybrida Epicattleya	63
Figura 28 Grosor de raíces en ½ Concentración de medio MS de la especie hybrida Epicattleya.....	64
Figura 29 Grosor de raíces de los controles en los diferentes tipos medios en especie hybrida Epicattleya.....	64
Figura 30 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes de Epicattleya con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	67
Figura 31 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes de Epicattleya con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	68
Figura 32 Gráficos de Medias para el ancho de los explantes de Epicattleya con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos...	69
Figura 33 Gráficos de Medias para el ancho de los explantes de Epicattleya con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos	69
Figura 34 Promedio del número de brotes en medio MS completo en especie Epicattleya	70
Figura 35 Promedio del número de brotes en medio ½ MS en especie Epicattleya.....	70

Figura 36 Promedio del número de brotes en los medios de control de la especie

Epicattleya.....71



INTRODUCCIÓN

El aumento del comercio de plantas ornamentales como el de la familia Orchidaceae, en especies como *Phalaenopsis* y *Epicattleya*; se debe a lo raro y exóticas que son, ya que no hay mucha presencia de especies híbridas de este género en Perú establecida por MINAM del año 2015 (1). Generando el aumento de la comercialización y llevando a la realización de protocolos en cultivo *in vitro* para su masificación en laboratorios sobre todo de especies híbridas que son generadas en programas de mejoramiento genético; ya que presentan una complejidad en cultivo *in vitro* en sus diferentes fases (germinación, crecimiento, multiplicación y enraizamiento) como su respuesta en aclimatación, la cual depende de la etapa de enraizamiento teniendo un impacto negativo cuando existe poca densidad y debilidad radicular, lo que ha conllevado a la búsqueda de estimulantes vegetales que no sean de procedencia inorgánica, el cual ha despertado la atención en la mejora de la productividad y la calidad de los cultivos; dando así el estudio de nuevas alternativas como uso de bioestimulantes en dosis adecuadas que promuevan la formación de explantes de buena calidad para su posterior aclimatación. Las microalgas han demostrado en cultivos “*ex vitro*” buenos resultados como en (hortalizas, tomate, maíz, como entre otros), tener un efecto en el crecimiento, aumento radicular y longitud de la planta, aplicada de manera distintas formas, como empapado en suelo, aspersión foliar o remojo en semillas (2). Su uso ha demostrado ser una alternativa sostenible debido a que apenas requiere de recursos no renovables (3), y aumentar la investigación en este tipo de estimulantes ya que no se posee mucha información en el área *in vitro*.

El extracto de algas ha favorecido el crecimiento de diversos cultivos y ha provocado mejor rendimiento, de producción, es por ese sentido, que se este trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el efecto del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis*

como suplemento en las diferentes Concentraciones del medio de cultivo MS en cultivos *in vitro* de la familia de las orquídeas en híbridos *Phalaenopsis* y *Epicattleya*, esperando como resultado el aumento del crecimiento radicular, crecimiento longitudinal y aumento en el número de hojas de la planta en un periodo más corto, en la dosificación intermedia de 3.5 mL de extracto de microalgal como en la combinación de los dos extractos usados en un solo tratamiento.



HIPÓTESIS

El uso de extractos acuosos de *Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis*, individualmente o combinados, mejora significativamente el crecimiento radicular, el número de brotes y la biomasa de híbridos de *Phalaenopsis* y *Epicattleya* cultivados *in vitro*, en comparación con cultivos sin suplementación.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar el efecto del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis* en dos concentraciones de sales de medio MS en cultivo *in vitro* de híbridos de orquídeas: *Phalaenopsis* y *Epicattleya*.

ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto *in vitro* del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis* en el medio de cultivo MS en el crecimiento, enraizamiento de los explantes de las dos orquídeas híbridas (*Phalaenopsis* y *Epicattleya*).
2. Evaluar el efecto de la utilización del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* + *Arthrospira platensis* en el medio de cultivo *in vitro* MS en el crecimiento, enraizamiento de los explantes de las orquídeas híbridas (*Phalaenopsis* y *Epicattleya*).
3. Evaluar el efecto *in vitro* del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis* en el medio de cultivo con la mitad de concentración de las sales de MS en el crecimiento, enraizamiento de los explantes de las dos orquídeas híbridas (*Phalaenopsis* y *Epicattleya*).
4. Evaluar el efecto de la utilización del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* + *Arthrospira platensis* en el medio de cultivo *in vitro* con la mitad de concentración de las sales de MS en el crecimiento, enraizamiento de los explantes de las orquídeas híbridas (*Phalaenopsis* y *Epicattleya*).

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES

• Variables independientes

- Tipos de extractos microalgales.
- Dosis de extractos de microalgas en medio MS.
- Híbridos de orquídea
- Concentración de medio MS completo y ½ MS

• Variables dependientes

- Crecimiento longitudinal del explante de las especies híbridas *Phalaenopsis* y *Epicattleya*
- Numero de hojas
- Enraizamiento de las especies híbridas *Phalaenopsis* y *Epicattleya*
- Crecimiento de brotes en las especies híbridas *Phalaenopsis* y *Epicattleya*

Tabla 1 Cuadro de variables en la experimentación

<i>Variables</i>	<i>Variable</i>	<i>Indicadores</i>	<i>Unidades</i>
<i>Independientes</i>	Tipos de extracto de microalgas	Extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> Extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	- -
	Dosis de extracto de microalgas	0.2, 0.35, 0.5	%
	Especie de orquídeas	<i>Phalaenopsis</i> híbrida y <i>Epicattleya</i> híbrida	
	Medios de cultivo	Concentración de medios completo MS y ½ MS	
<i>Dependientes</i>	Enraizamiento	Numero de raíz	
		Grosor de raíz	Escala (Grueso-Normal – Delgado)
		Longitud de la raíz	cm
		Inicio de enraizamiento	Número de días
	Brotamiento	Numero de brotes Longitud del explante Disposición de brotes	cm

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Las orquídeas

Las orquídeas pertenecen a una familia de plantas monocotiledóneas, que, presenta una estructura compleja en sus flores (1)(4), se ha de calcular que a nivel mundial existen más de treinta mil especies, y en más abundancia se da en los trópicos, como también en zonas templadas (5), es de importancia resaltar que el comercio de estos especímenes de especie como los híbridos, está permitido en Perú, con la condición de ser reproducida artificialmente (6), lo que ha llevado a la demanda de producción de plántulas de calidad en un corto periodo de tiempo; debido a que entre más rara la especie y hermosa, es más apreciada como planta ornamental (7). Esta apreciación se debe a coloración oscura de algunas especies (8).

1.1.1 Morfología floral

Todas las orquídeas presentan un patrón similar floral. La flor se ha de desarrollar sobre el ovario, la capa exterior de sus partes florales posee tres sépalos equidistantes, una capa posterior a esa posee tres pétalos, en el cual dos de ellos (pétalos dorsales) han de ser iguales entre sí y con una diferencia con el tercer pétalo, que se llama labelo y esta es modificado para la adquisición de formas extrañas, puesto que juega un de los papeles más importantes en la polinización. Sus órganos reproductores están fusionados en una estructura que ha de recibir el nombre de columna (8).

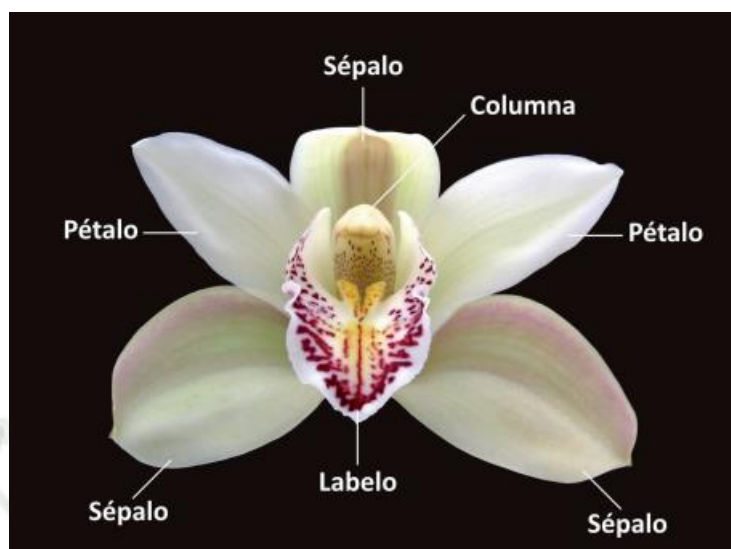


Figura 1 Estructura floral, *Cymbidium* (8)

1.1.2 Morfología vegetativa

La familia de las orquídeas (*Orchidaceae*), es mejor conocida debido a que representan en gran número a las especies epifitas; son nativas de los trópicos, debido a producción de semillas que son más pequeñas que las angiospermas (sus vainas han de poder liberar cientos de miles de semillas que llegan a medir micras), por su poco peso, su dispersión es frecuente a distancias grandes de sus progenitoras. Una vez que hayan germinado, las orquídeas pueden adaptarse, debido a que poseen una vaina absorbente más conocida como velamen; está cubierta esponjosa ha de añadir una superficie extra a las raíces que ha de mejorar la absorción del agua (9). “En cuanto al crecimiento, se presenta de dos formas: monopodial y simpodial (10).”

El monopodial es aquella que posee un solo eje de crecimiento, el rizoma está cubierto de hojas y no presenta mucha generación de tallos secundarios; por lo consecuente su propagación vegetativa es lenta y su división de la planta tarda. Lo que en orquídeas las monopodiales sus varas florales son reproducidas en las axilas de las hojas. Sin embargo, en otras plantas, su rizoma se ha de dividir periódicamente, por lo que posee más de un eje de crecimiento, y son

denominadas simpódicas; su rizoma es capaz de producir tallos modificado o pseudobulbo que han de sostener a las hojas, y a partir de ello se genera flores individuales o inflorescencias, nuevos tallos o se ha de prolongar el rizoma (11).

1.1.3 Selección genética

La selección para la siembra de semillas que provienen de plantas se realiza para la obtención de características favorables (12); esto se puede realizar *in vitro* o *ex vitro*, que este orientada a la adaptación por medio de la tolerancia o resistencia a factores ambientales que permita el cultivo masivo de la especie que se desea (13).

1.1.3.1 Métodos de selección genética

Selección masal:

Usado para poblaciones heterogéneas formadas por líneas puras, variedades locales (dentro de esto se tiene la selección masal única, repetida y con la separación de formas), cabe resaltar la importancia de purificación de variedades, para determinar la presencia de fenotipos diferentes al original.

Selección genealógica:

Se basa en el aislamiento del mejor genotipo, ya que se selecciona plantas que presenten las mejores características, presentándolas como un nuevo cultivo (14).

1.1.4 Cultivo de tejidos vegetales

Ya hace más de 120 años aproximadamente, en investigaciones en fisiología vegetal se ha usado la técnica de cultivo de tejido vegetal, el cual consiste en cultivar en medios nutritivos que sean adecuados y en una forma aséptica, los

cuales son ápices de raíz y de tallo, primordios de hoja o partes inmaduras de flores, frutos inmaduros, embriones maduros e inmaduros, segmentos de tallo y hoja y en otras ocasiones ovarios, óvulos, anteras y polen (15).

1.1.5 Cultivo *in vitro*

El cultivo *in vitro* en condiciones asépticas es uno de los métodos más usados en el programa de mejoramiento y la conservación de especies para fines de selección de las plantas ornamentales (15). Además, que es un conjunto de técnicas, usado para el crecimiento de células, tejidos y órganos vegetales, esta se realiza en condiciones controladas, a partir de fragmentos, yemas o explantes (semillas, raíz, hojas, yemas, entre otros) para la multiplicación o propagación de plantas nuevas en gran cantidad, realizada en poco tiempo y que estén libre de enfermedades, teniendo en cuenta los factores que han de determinar el desarrollo y el crecimiento de las plántulas de orquídea *in vitro*, como el tiempo y viabilidad, nutrientes necesarios, agua, macronutrientes, micronutrientes, luz, temperatura y humedad, sustancias orgánicas, vitaminas, reguladores de crecimiento, aminoácidos, etc. Posterior, los cultivos se incuban en cuartos apropiados, cámaras de crecimiento o gabinetes; que son más eficientes en cuanto al control ambiental. El área de incubación *in vitro* ha de proporcionar un buen control de la temperatura (25 ± 2 °C) de iluminación (que es variable, según la necesidad) y una humedad relativa (70 - 80%), es necesario tambien propiciar una buena distribución del aire, para evitar el recalentamiento por efecto de las luces, ya que necesitan estar con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de obscuridad (15)(16).

El traspaso a medios nuevos es un proceso delicado debido a la posible contaminación de la plántula, debe colocarse en medios separados para que esta pueda desarrollarse sin tener dificultad (17).

1.1.6 Enraizamiento *in vitro*

La rizogénesis *in vitro* ocurre en un lapso de 1 a 3 semanas, el cual puede ser dividida en tres etapas: inducción, iniciación y elongamiento de raíz. El sistema de inducción radicular *in vitro* es difícil debido, a la ausencia de pelos absorbentes en la fase de desarrollo, lo que ocasiona la muerte de la planta, en la transferencia *ex vitro*, ya que en las raíces se presenta una capa blanquecina llamada velamen, que tiene como función la protección de tejidos internos del ambiente exterior, como la retención de humedad (18); por ello es necesario que las raíces que han de ser trasplantadas sirvan como una fuente de energía, para producción de nuevas raíces que sean funcionales en la fase de aclimatación (19).

1.1.7 Híbridos

Estos proceden de la unión de dos individuos de un mismo género, con diferentes especies o de la misma especie. Se ha de producir cruces múltiples lo que permite la producción de flores más grandes, mejora de la forma, amplia gama de color y disposición de las flores en el tallo. El producto de la hibridación ha generado la desaparición de los materiales vegetativos con color y forma típica, y dio propicio a muchos requisitos en la adaptación de diversos climas, como también la forma y el tamaño uniforme. Hoy en la actualidad los híbridos complejos han tomado predominancia en características de la progenie

que ha de ser imprescindible, como en el color que va siendo desde blanco, crema, bronce, verde, rosa, oro o amarillo (20).

1.1.7.1 Tipos de hibridación

- **Hibridación natural:** Implica flujo génico entre especies distintas o incluso géneros distintos. Alguno de los híbridos tambien se han de dar por la confusión de algunos insectos que depositan el polen de una especie a otra, por lo que se identifican con la letra x antepuesta a sus apellidos en su nomenclatura. (21)
- **Híbridos artificiales:** Estos son hechos con la intervención de la mano del hombre, alguno es producidos en masa, por lo general son “NOID” que son plantas sin identificar, se sabe que son híbridos, pero no de que especie o de que híbrido provienen. Alguno de ellos es producido en cantidad por medio de la micropropagación, con el fin comercial, pero debido a su carga genética débil son desechables debido a su única floración.(21) (22)
- **Híbridos interespecíficos:** Es uno de los recursos más importantes en el mejoramiento de plantas ornamentales, ya que presenta una alta potencialidad para obtener vigor híbrido, como la posibilidad de combinar pooles génicos dando una variación en caracteres, que no se presenta en las especies originales. (23)
- **Híbridos intergenéricos:** La hibridación artificial de orquídeas es uno de los procedimientos con mayor facilidad, pero muchas de las especies carecen de barreras internas que han de impedir la hibridación o el cruce con otras especies del mismo género. Por lo que el uso de esta técnica ha sido de gran importancia que ha llevado a la producción de un gran numero

en orquídeas, con valor industrial de flores de corte y orquideólogos aficionados, pudiendo obtener híbridos multigénicos. (22)

1.1.8 *Phalaenopsis*

La “orquídea mariposa nocturna”, es una de las orquídeas más conocida, sus flores pueden llegar a durar meses. Proviene de los trópicos asiáticos incluyendo el archipiélago de Malasia, Taiwán, Filipinas, sur de China, Indonesia, India, Pakistán y el norte de Australia, lugares donde haya una temperatura bastante alta y lluvia durante todo el año. Por su forma de crecimiento que es monopodial, las orquídeas pertenecientes a este grupo no poseen bulbo ni rizoma y la planta consta de un tallo principal con un crecimiento continuo hacia arriba del cual brotan las hojas, en forma alternada y que únicamente sirve para el almacenamiento de agua. Sus hojas son anchas de color verde oscuro brillante o a veces moteadas con manchas azules grisáceas. Las flores aparecen en la base de sus hojas de manera alternada en la base de las hojas y con frecuencia en tallos ramificados. su florecimiento varía dependiendo del cultivo, de 2 a 3 veces al año y una vez abierta todas las flores, estas se mantendrán en buen estado por un periodo de 6 a 10 semanas o incluso más dependiendo de la humedad ambiental y del manejo de la planta (24). Hay diferentes colores y la floración puede ser sola o en varios ejes o tallos florales de 8 a 10 flores cada uno. Su tallo cortado dura de 2 a 3 semanas en agua, por lo que se le ha denominado flor de corta (25).

1.1.8.1 Importancia de las hojas

La estructura de las hojas ha de corresponder al hábitat de la orquídea. Estas especies tienden a crecer en sitios con bastante luz solar, como en sitios muy

secos, por lo que desarrollan hojas gruesas y hojas coriáceas, cuyas laminas están cubiertas por una cutícula cerosas para la retención de agua, por otro lado, poseen hojas altas y delgadas. No toleran una caída de humedad atmosférica ni tampoco la exposición a la luz solar directa. Las orquídeas epifitas se han de caracterizar por tener hojas gruesas y suculentas con paredes celulares gruesas, cutícula y cámara subestomática pequeña, mientras que las terrestres son delgadas. Las hojas gruesas de *Phalaenopsis* tiene un metabolismo ácido crasuláceo (CAM), muy importante al estrés hídrico. (26)

1.1.8.2 Clasificación taxonómica

El género *Phalaenopsis* se encuentra en la tribu Vandae (Tabla 2), subtribu Aeridinae.

Tabla 2 Clasificación taxonómica de *Phalaenopsis*

Reino	Plantae
División	Angiospermae (plantas abastecidas de flor y/o de fruto)
Clase	Liliopsida (monocotiledóneas)
Orden	Asparagales
Familia	Orchidaceae
Subfamilia	Vandoideae
Tribu	Vandae
Subtribu	Aeridinae
Genero	<i>Phalaenopsis</i>
Especie	<i>Phalaenopsis</i>

* La tabla representa la clasificación taxonómica de la especie *Phalaenopsis*. Fue extraído de “Manual práctico de producción y manejo de orquídeas *Phalaenopsis*” y “Orquídeas Mariposa (genero *Phalaenopsis*)” y elaborado por Cortez-Azenon (27) (28)

1.1.9 *Epidendrum Pseudepidendrum*

Es una especie de orquídeas originaria de Panamá y Costa Rica. Sus bastones erguidos pueden alcanzar 5 pies de altura, tienen florescencias paniculadas que pueden volver a florecer varios años (29)

1.1.9.1 *Clasificación taxonómica*

El género *Epidendrum* se encuentra en la tribu Epidendreae (Tabla 3), subtribu *Laeliinae*.

Tabla 3 Clasificación taxonómica de *Epidendrum*

Reino	Plantae
División	Viridiplantae
Filo	Streptophyta
Clase	Magnoliopsida (Angiospermas)
Orden	Asparagales
Familia	Orchidaceae
Subfamilia	Epidendroideae
Tribu	Epidendreae
Subtribu	Laeliinae
Genero	<i>Epidendrum</i>
Especie	<i>Epidendrum</i> sp.

* La tabla representa la clasificación taxonómica del género *Epidendrum*. Fue extraído de “Boletín de la Asociación de la Orinoquía” y elaborado por Ortiz-Moreno (30).

1.1.10 *Cattleya violácea*

Es una especie de monocotiledónea de la familia Orchidaceae, originarias de las selvas tropicales bajas de las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco, siendo una de todas las especies de *Cattleya* más extendida en estado salvaje. *C. violácea* también se ha encontrado en todo el norte de América del Sur. Las orquídeas de esta especie crecen en los árboles, a lo largo del río, puesto que requieren de calor y humedad en todo el año (31).

1.1.10.1 *Clasificación taxonómica*

La especie *Cattleya violácea* se encuentra en la clase Magnoliopsida revisar la (Tabla 4). (30,32)

Tabla 4 Clasificación taxonómica de Cattleya violácea

Reino	Plantae
División	Viridiplantae
Filo	Streptophyta
Clase	Magnoliopsida (Angiospermas)
Orden	Asparagales
Familia	Orchidaceae
Genero	<i>Cattleya</i>
Especie	<i>Cattleya violácea</i>

* La tabla representa la clasificación taxonómica de la especie *Cattleya violácea*. Fue extraído de “Boletín de la Asociación de la Orinoquía” y “*Cattleya violácea*” como elaborado por Ortiz-Moreno (30)(32).

1.1.11 Bioestimulantes

El bioestimulante vegetal es cualquier sustancia o microorganismo aplicado en las plantas con el fin de mejorar la eficiencia nutricional, características de calidad del cultivo y la tolerancia al estrés abiótico (33).

La ciencia de los bioestimulantes es actual, debido al concepto similar que se vincula a la teoría de estimulantes biogénicos de Filatov, ella propuso que los materiales biológicos que derivan de diversos organismos en exposición a factores de estrés afectan los procesos metabólicos y energéticos cuando son aplicados en plantas con beneficios reproducibles en el cultivo de plantas agrícolas (3).

El uso de bioestimulantes ha incrementado debido a los compuestos bioactivadores que han de favorecer el incremento de proteínas, aminoácidos, vitaminas, actividad antioxidante, compuestos fenólicos, estimulación de la división de cloroplasto, aumento de concentraciones de Mg, Na, Cu y Mn, la y la eficiencia de nutrientes (34).

Por ello, los bioestimulantes que son distintos a los fertilizantes (mejoran la productividad de los cultivos al actuar directamente sobre las plantas, independiente de su contenido (2).

Tipos más usados: Ácidos húmicos y fúlvicos; fitohormonas, extractos de algas, microalgas y plantas, compuestos inorgánicos, quitosanos y otros biopolímeros, hongos beneficiosos; aminoácidos y mezclas de péptidos, moléculas nitrogenadas como betaínas, piaminas, tricontanol, estrigolactonas y brasinoesteroides (35).

Ventajas

- Mejoran la absorción y asimilación de nutrientes
- Aumentan la tolerancia a estrés biótico o abiótico
- Mejoran las características morfológicas de las plantas (34).

1.1.12 Microalgas

1.1.12.1 *Taxonomía y características*

Son microorganismos fotosintéticos (2 a 200 μm) unicelulares que, mediante la luz solar, nutrientes, minerales, agua y CO_2 , generan biomasa de interés biológico, como diversas aplicaciones industriales. Estas poseen una gran diversidad, al ser procariotas o eucariotas como presentar organización unicelular, filamentosa o colonial, pueden vivir en simbiosis con otros organismos vivos o presentar una forma de vida libre, son responsables de transformar la composición de la atmosfera (fijación de CO_2 y emisión de O_2) dando el surgimiento de la vida vegetal (36); a través de la fotosíntesis, estos microorganismo sintetizan el oxígeno y metabolitos orgánicos como : lípidos, carbohidratos y proteínas. Des un enfoque estructural una microalga posee núcleo, membrana plasmática y contiene orgánulos esenciales para su correcto funcionamiento, como los cloroplastos, elaioplastos, amiloplastos y mitocondrias; como tres principales de pigmentos: carotenoides, clorofilas y ficobiliproteínas. Son de fácil captura y digestión por la multitud de organismo que se alimentan en forma directa del fitoplancton (microalga) (3) (36).

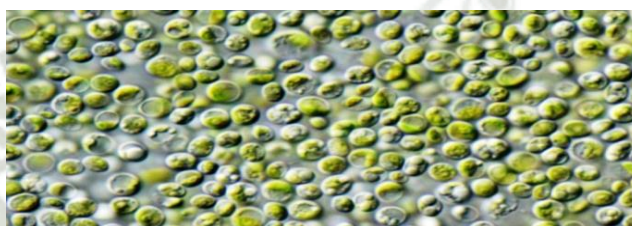
1.1.13 Extracto de microalgas

La producción de biomasa microalgal se puede usar para la obtención de distintos tipos de extractos económicos en el comercio. Por lo general se da durante la fase de crecimiento exponencial, ya que se logra el máximo rendimiento de biomasa de microalgas. Esta biomasa puede ser recuperada del caldo mediante centrifugación y microfiltración. Uno de los procesos más importante y común es la preservación de la biomasa de microalgas, como en pasteurización, deshidratación a 70 °C en un periodo de 14 horas y llevado después a molienda y almacenamiento. El compuesto microalgal se encuentra encerrado en las paredes celulares y/o unidos a diversas estructuras. Lo que ha provocado su preferible extracción o recuperación de estos compuestos activos mediante procesos , de secado, crioprocesamiento (la biomasa que está congelada se trata mediante un molino que se ha de enfriar con nitrógeno líquido para obtener la suspensión micronizada en partículas finas); ruptura celular con alta presión (se trata la biomasa a altas 'presiones y someterlo a una reducción de presión, provocando la ruptura de pared celular), tratamientos enzimáticos o técnicas convencionales (líquido-líquido o sólido-líquido), extracción subcríticas, extracción asistida por microondas y ultrasonidos (37).

1.1.14 *Chlorella vulgaris*

Es un alga verde unicelular de agua dulce; son de forma esférica y su tamaño oscila entre 3.75 a 5 μm , posee un pirenoide y un cloroplasto parietal único en forma de copa con una abertura irregular, que ha de ocupar la mayor parte de su volumen celular y se reproduce por autósporas. Su nombre *Chlorella* proviene del vocablo griego *chloros*, que significa verde y el sufijo *ella* que se refiere a su tamaño microscópico; perteneciente a las microalgas con más frecuencia,

capacidad de crecer en distintos tipos de trofia y tolerancia a ambientes hostiles en términos de temperatura, pH, salinidad y deficiencia de nutrientes. Posee una mancha ocular y vacuolas contráctiles, de clase *Chlorophyceae*, no móvil, con un único núcleo pequeño, reproducción asexual (cada célula haploide se divide mitóticamente de dos a tres veces para dar origen a cuatro y/u ocho células no móviles más), su organización de estas microalgas es en colonias y forman un agregado celular, como se observa en la Figura 2 (38).



(39)

Figura 3 *Chlorella vulgaris* (39).

1.1.14.1 Taxonomía

Especie de alga verde de la familia *Chlorellaceae*, con ID de taxonomía del NCBI (3077) descrita en la siguiente tabla 5.

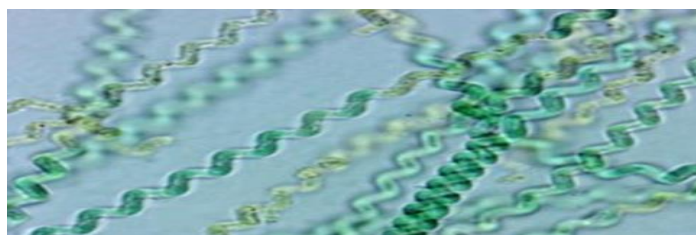
Tabla 5 *Chlorella vulgaris* taxonomía. Elaboración propia

Super-reino	<i>Eucariota (ukaryotes)</i>
Reino	<i>Viridiplantae (planta verde)</i>
Phylum (filo)	<i>Chlorophyta</i>
Clase	<i>Trebouxiophyceae</i>
Orden	<i>Chlorellales</i>
Familia	<i>Chlorellaceae</i>
Genero	<i>Chlorella</i>
Especie	<i>Chlorella vulgaris</i>

* La tabla representa la clasificación taxonómica de la microalga *Chlorella vulgaris*. Fue extraído de “*Chlorella vulgaris*” (40)

1.1.15 *Arthrospira platensis*

Arthrospira platensis o *Spirulina platensis* es una microalga cianofita conocida como algas verde-azules o cianobacteria, se caracteriza por ser un organismo procariota, fotosintético de antigüedad (41). Es una microalga filamentosa de forma helicoidal con tamaño que oscila de 200 a 250 μm , usada principalmente por su grado de disponibilidad (88 a 92%), su mayor crecimiento se ha referido a temperaturas de 25 - 40 °C, con pH de entre 10 a 11, iluminación de 30 – 50 klux y salinidad de 18 a 22 UPS (42). Una de las características de las cianofitas es la plasticidad que presenta frente a distintos medios ecológicos en el que se desarrollan lo que ha traído confusión en la determinación de especies y de géneros (43). La *Arthrospira platensis* presenta una característica morfológica de la disposición de los tricomas cilíndricos multicelulares en una hélice abierta a la izquierda en toda la longitud, sus filamentos no heterocistos de color verde azulado, compuesto por células vegetativas sufren fisión binaria en un solo plano, muestran paredes transversales fácilmente visible, filamentos solitarios y flotan libremente, presenta movilidad deslizante, sus tricomas están envueltos por una vaina fina y presentan constricciones más o menos poco pronunciadas en las paredes transversales y ápices poco atenuados. (44)



(45)

Figura 4 *Arthrospira platensis* (45)

1.1.15.1 Taxonomía

Especie de cianobacteria de la familia *Microcoleaceae*, con ID de taxonomía del NCBI (118562) descrita en la siguiente tabla 6.

Tabla 6 *Arthrospira platensis* taxonomía. Elaboración propia

Super-reino	<i>Bacteria</i>
Phylum (filo)	<i>Cyanophyceae</i>
Clase	<i>Oscillatoriales</i>
Orden	<i>Oscillatoriales</i>
Familia	<i>Microcoleaceae</i>
Genero	<i>Arthrospira</i>
Especie	<i>Arthrospira platensis</i>

* La tabla representa la clasificación taxonómica de la microalga *Arthrospira platensis*. Fue extraído de “*Arthrospira platensis*” (46)

1.1.16 Microalgas como bioestimulantes

La actividad bioestimulante de los extractos microalgales, han sido asociados con el contenido de metabolitos primarios (lípidos, carbohidratos y proteínas), aminoácidos (triptófano y arginina), smolitos (glicina, betaína, prolina), vitaminas y polisacáridos (β -glucano) (47); la mayoría de los bioestimulantes de microalgas usualmente se administran en plantas y la rizosfera en distintos modos, como empapado del suelo, riego por goteo, aplicación foliar y en tratamientos de semillas. Se ha identificado varios compuestos bioestimulantes como fenoles y fitohormonas que imitan compuestos; terpenoides, aminoácidos y polisacáridos. Los extractos y metabolitos que se obtienen de especies de

microalgas como *Chlorella spp.*, *Arthrospira platensis*, *Dunaliella spp.*, etc., se utilizan comúnmente como bioestimulantes (2).

1.1.17 Fitohormonas que imitan compuestos de microalgas

Las fitohormonas son moléculas de señalización con bajo peso molecular, estructuralmente no relacionadas, que se producen naturalmente en plantas y han de proporcionar efectos estimulantes en concentraciones bajas en diversos procesos del desarrollo de las plantas, como diferenciación de tejidos, formación de las raíces y brotes, fertilización y senescencia, defensa y tolerancia a estrés biótico y abiótico. (2)

Auxinas: Son hormonas vegetales que derivan del triptófano, están implicadas en la regulación de procesos fisiológicos como la división y elongación celular, diferenciación de tejido vascular, respuesta al estrés y dominancia apical del tropismo. Esta fitohormona es la primera en ser identificada en compuestos como ácido indol-3-acético (IAA), indol-3-acetamida (IAM), ácido 4-cloroindol-3-acético, ácido indol-3-butírico (IBA) y ácido 2-fenilacético. Se reportó que microalgas como *Chlorella spp.*, *Acutodesmus spp.* y *Scenedesmus spp.* contenían auxinas en concentraciones que iban de 0.18 y 99.83 nmol/g de biomasa de peso seco que se dio en dos tipos de biomasa compuestos de IAA e IAM. (2)

Citoquininas: Son derivados de la adenina sustituidos con N6 que ha de contener cadenas laterales aromáticas o isoprenoides. Se le ha implicado en una amplia gama de procesos de desarrollo, como la germinación, función de los meristemos de brotes y raíces, senescencia de las hojas; además de jugar un papel de gran importancia en la formación de nódulos fijadores de nitrógeno

(48). En microalgas las citoquininas más observadas oscilo de 0.29 nmol/g peso seco y 21.40 nmol/g peso seco en concentración máxima observándose en *Stigeoclonium nanum*; las citoquininas predominantes fueron *cis* -zeatina e isopentenil adenina, y en baja concentración ribosidos y bases libres (2).

Ácido Giberélico: Los ácidos giberélicos (AG) es una clase específica de fitohormona con función principal en la tolerancia del estrés abiótico y salinidad en las plantas de cultivo. La concentración de GA3 en estrés abiótico llega a ser beneficiosa para la fisiología y metabolismo de las plantas, puesto que ha de regular el proceso metabólico en función de la señalización de azúcares y enzimas antioxidantes. Los AG influyen mayor parte en el proceso de la germinación en semillas, expansión de hojas, iniciación de flores, elongación del tallo e inicio de frutos (49). En microalgas se ha identificado aproximadamente 19 tipos de AG, son función principal en la elongación de tallos, geminación en semillas mediante activación enzimática (alfa-amilasa), desarrollo de órganos florales, inicio de la floración e influencia en la biosíntesis de proteínas; donde se halló una alta concentración total de AG en microalgas con una concentración de 3452.9 pg/mg para GA15 en *Scotiellopsis terrestris*, en *Chlorella vulgaris* sus extractos derivados contienen GA3, que reducen el efecto adverso causado por el estrés dado por metales pesados como también la defensa frente al plomo y cadmio (2).

Etileno: Es una hormona gaseosa que ha de regular un espectro de procesos fisiológicos como el desarrollo y crecimiento de la planta, la tolerancia a factores ambientales de estrés biótico y abiótico, envejecimiento alta salinidad, frío y la sequía. Además de desencadenar una triple respuesta: exageración del crecimiento del gancho apical, extensión de la raíz y depresión del hipocótilo,

se cree que protege los meristemas apicales de los brotes y posibles daños a las raíces. Se ha reportado microalgas pertenecientes del género *Chlorella*, *Scenedesmus* y *Chlamydomonas*, sintetizan etileno (50).

Ácido Abscísico: Fitohormona responsable de romper la latencia de las semillas, como potencial desarrollo de plantas y tener un papel importante en las respuestas de adaptación al estrés; el ácido abscísico (ABA) participa en la maduración, regulación del agua en el cuerpo de la planta mediante apertura y el cierre de estomas; en condiciones de déficit hídrico el ABA se biosintetiza en las raíces y se ha de transportar a las hojas mediante el xilema, aumentando la concentración en las hojas; además de desencadenar y movilizar una serie de defensas bioquímicas como la biosíntesis de prolina, enzimas desintoxicantes de ROS, antioxidantes, proteínas de choque térmico, ácidos. grasos insaturados junto al fortalecimiento de las ceras cuticulares, que han de permitir a la planta protegerse de efectos como el estrés abiótico (50).

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Lugar de la investigación (Ámbito geográfico):

Latitud: -12.1692; Longitud: -77.0244 | 12° 10' 9" Sur, 77° 1' 28" Oeste

La investigación se realizó en Boniplant. Ubicado en la ciudad de Lima, Chorrillos, San Aurelio 242.

Ambientes por utilizar: Laboratorio de cultivo *in vitro* de Boniplant

2.2 Materiales:

2.2.1 Material vegetal

- Explantes de *Phalaenopsis Híbrida*; *Híbrido Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea semi alba* ; dado por el laboratorio de Boniplant, en última etapa de cultivo *in vitro*

2.2.2 Material del medio de cultivo *in vitro*

- 50 g Biomasa seca de *Chlorella Vulgaris*
- 50 g Biomasa seca de *Arthrospira Platensis*
- 26.58 g Medio Murashige y Skoog marca Phyto Technology Laboratories
- 20 L Agua destilada
- 40 mL Hipoclorito de sodio 4%
- 48 g Azúcar
- 3.2 g Carbón Phyto Technology Laboratories
- 50.4 g Agar Phyto Technology Laboratories
- 5 mL Hidróxido de sodio
- 5 mL Ácido clorhídrico

- 10. 93 g Medio P668 de mantenimiento de orquídeas Phyto Technology

Laboratories

- Buffer de calibración 4
- Buffer de calibración 7
- Buffer de calibración 10
- Buffer de almacenamiento
- 1 L Etanol

2.2.3 Material de vidrio y porcelana

- 1 Beakers
- 1 Mortero y maja
- 2 Probetas
- 168 Frascos de vidrio
- 3 Placas petri
- 1 Agitador magnético

2.2.4 Equipos y otros

- 1 Balanza analítica
- 1 Supply Orbital and Linear Shaker Wholesale Factory
- 1 Cámara de flujo laminar
- 1 Autoclave
- 1 Microondas
- 1 Estufa biobase
- 2 Plásticos film
- 1 Papel aluminio
- 6 Pinzas curvas

- 4 Rectas
- 4 Bisturíes y mango de bisturíes
- 88 Tapas con filtro
- 8 Guantes, gorros, mascarillas
- 1 Mecheros
- 1 Papel toalla
- 1 L Legía
- 1 Kg Detergente
- 1 Encendedor

2.2.5 Software

- Statgraphics 19 – X64
- Excel

2.3 Métodos:

2.3.1 Preparación del extracto acuoso de microalga

La biomasa seca de microalga se diluyo en agua destilada (5 g de biomasa de microalga seca disuelta en 100 mL de agua destilada se consideran extracto al 100%), para la ruptura celular se realizó a través de trituración con mortero y maja durante 40 min.

2.3.2 Esterilización y autoclavado de materiales para el cultivo *in vitro*

Se esterilizó los materiales y frascos en autoclave a una temperatura de 121 °C x 15 minutos.

2.3.3 Preparación de los medios de cultivo *in vitro* para *Phalaenopsis hybrida* y *Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya*

2.3.3.1 Preparación del medio control de Murashige y Skoog (MS) sin extracto de microalga

Se realizó la preparación del medio de cultivo MS (51) , con la adición de carbón y agar de marca Phyto Technology Laboratories, más azúcar en cantidades establecidas por el laboratorio, llevando la preparación final aun pH de 5.5.

2.3.3.2 Preparación del medio control de ½ Murashige y Skoog (MS) sin extracto de microalga

Se realizó la preparación con la mitad del medio de cultivo MS Phyto Technology Laboratories, siguiendo las instrucciones que da el producto a un pH de 5.5.

2.3.3.3 Preparación del Medio P668 de mantenimiento de orquídeas Phytotechnology Laboratory

Se preparó el medio de cultivo Medio P668 de mantenimiento de orquídeas con las instrucciones del laboratorio a un pH de 5.5.

2.3.3.4 Preparación del medio MS + extracto de microalga para cada especie de orquídeas

Se preparó el medio de cultivo MS anteriormente descrito, posterior a cada frasco se procedió añadir el extracto con una concentración de 0.2%, 0.35% y 0.5% ; por cada microalga y en igual medida para el tratamiento del extracto de *C. vulgaris* (0.1%) + *A. platensis* (0.1%). (52)

2.3.3.5 Preparación del medio $\frac{1}{2}$ MS + extracto de microalga para cada especie de orquídeas

Se preparó el medio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS anteriormente descrito para *Phalaenopsis* híbrida, posterior a cada frasco se procederá a añadir el extracto con una concentración de 0.2%, 0.35% y 0.5% ; por cada microalga y en igual medida para el tratamiento del extracto de *C. vulgaris* (0.1%) + *A. platensis* (0.1%). (52)

2.3.4 Cultivo *in vitro* de brotes de *Phalaenopsis* híbrida y *Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea*

Se seleccionaron los brotes con similitud morfológica (tamaño y desarrollo) de la fase de micropropagación, dadas por el laboratorio Boniplant, con una medida que oscila de 3 – 4 cm para ambas especies, a cuáles se les quito las raíces y sembró de manera inmediata en los frascos que contenían los medios de cultivo con sus respectivos tratamientos, posteriormente se llevaron a cámara de incubación bajo las condiciones del laboratorio de Boniplant (temperatura a 24°C, 70% de humedad, 18/6 en fotoperiodo).

2.3.5 Control de los explantes semanal

Se llevo un reporte semanal, para observar el crecimiento radicular de los explantes de cada especie.

2.3.6 Factores y niveles en estudio

2.3.6.1 Especies de orquídeas

- *Phalaenopsis* híbrida (O1)
- *Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea* (O2)

2.3.6.2 Factor E (Extractos)

- Extracto de *Chlorella vulgaris* (E1)
- Extracto de *Arthrospira platensis* (E2)
- Extracto de *Chlorella vulgaris* + *Arthrospira platensis* (E1 + E2)

2.3.6.3 Factor D (Dosificación en laboratorio)

- 0.2% (D1)
- 0.35% (D2)
- 0.5% (D3)

2.3.6.4 Niveles de concentración de medio

- Concentración completa de medio MS (M1)
- ½ de concentración de medio MS (M2)

2.3.7 Tratamientos

2.3.7.1 Tratamientos para *Phalaenopsis hybrida*

En la siguiente tabla 7, se describe los tratamientos que se estudió:

Tabla 7 Tratamientos de Phalaenopsis hybrida con medio MS completo

Tratamientos	Código	Descripción	
		Extractos (E)	Dosis (D)
T1	E1D1	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.20%
T2	E1D2	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.35%
T3	E1D3	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.50%
T4	E2D1	MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T5	E2D2	MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T6	E2D3	MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%

T7	(E1+E2)D1	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T8	(E1+E2)D2	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T9	(E1+E2)D3	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%
Control 1	Control	MS Phytotechnology	-
Control 2	Control 2	Medio de mantenimiento de orquídeas Phyto Tech Labs,	-

Tabla 8 Tratamientos de *Phalaenopsis hybrida* con medio $\frac{1}{2}$ MS

Tratamientos	Código	Descripción	
		Extractos (E)	Dosis (D)
T1	E1D1	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.20%
T2	E1D2	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.35%
T3	E1D3	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.50%
T4	E2D1	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T5	E2D2	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T6	E2D3	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%
T7	(E1+E2)D1	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T8	(E1+E2)D2	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T9	(E1+E2)D3	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%
Control 1	Control	$\frac{1}{2}$ MS Phyto Tech Labs,	-

2.3.7.2 Tratamientos para *Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya*

violácea s/a

En la siguiente tabla 5, se describe los tratamientos que se estudió:

Tabla 9 Tratamientos de Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea s/a con medio MS completo

Tratamientos	Código	Descripción	
		Extractos (E)	Dosis (D)
T1	E1D1	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.20%
T2	E1D2	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.35%
T3	E1D3	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.50%
T4	E2D1	MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T5	E2D2	MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T6	E2D3	MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%
T7	(E1+E2)D1	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T8	(E1+E2)D2	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T9	(E1+E2)D3	MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%
Control 1	Control	MS Phytotechnology	-
Control 2	Control 2	Medio de mantenimiento de orquídeas Phyto Tech Labs,	-

Tabla 10 Tratamientos de Epidendrum Pseudoepidendrum x cattleya violácea s/a con medio ½ MS

Tratamientos	Código	Descripción	
		Extractos (E)	Dosis (D)
T1	E1D1	½ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.20%
T2	E1D2	½ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.35%
T3	E1D3	½ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i>	0.50%

T4	E2D1	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T5	E2D2	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T6	E2D3	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%
T7	(E1+E2)D1	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.20%
T8	(E1+E2)D2	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.35%
T9	(E1+E2)D3	$\frac{1}{2}$ MS + extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> + extracto de <i>Arthrospira platensis</i>	0.50%
Control 1	Control	$\frac{1}{2}$ MS Phyto Tech Labs,	-

2.4 Diseño experimental

Para el desarrollo del experimento se usó un diseño de bloques completamente al azar DBCA con 3 bloques, debido a los extractos para poder evaluar la influencia de la dosis como los extractos en el crecimiento de raíces, longitud de raíces, número de hojas, alto y ancho finales de los explantes, se realizó 4 repeticiones por tratamiento y un total de 168 unidades experimentales.

Para la determinación de si hay una diferencia significativa de los cambios de los explantes en los diferentes tipos de extractos, se realizó un análisis de medias del número de raíces, a través de pruebas paramétricas para la determinación de las diferencias entre las medias usando el análisis de varianza (ANOVA $p < 0.05$). Mediante la prueba LSD (test de comparaciones múltiples), en el caso de haber una diferencia significativa en el análisis de ANOVA, se ha de realizar entre que extractos o dosis hay diferencias significativas.

2.5 Evaluaciones

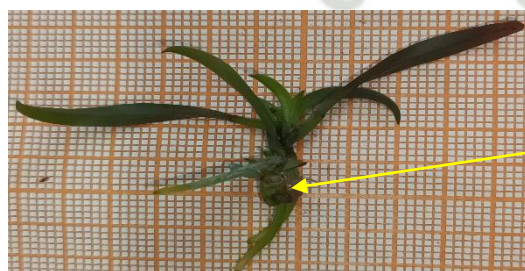
Para las evaluaciones de los explantes se consideró 4 repeticiones por el cual se trabajó con un total de 168 unidades experimentales. Después de 8 semanas de cultivo *in vitro* se inició las evaluaciones frascos en las diferentes especies.

Las variables que se evaluaron por especie fueron:

- a. Número de hojas
- b. Número de raíces
- c. Crecimiento radicular
- d. Grosor de raíz
- e. Alto de los explantes
- f. Ancho de los explantes
- g. Número brotes
- h. Disposición de brotes

2.6 Disposición de los brotes

La disposición de los brotes se reportó de manera visual dependiendo el crecimiento de los brotes en los explantes, profunda (P) o área (A).



Brotes profundos

Figura 5 Disposición de brote profundo en Epicattleya

2.7 Grosor de raíces

El grosor de las raíces se realizó de manera cualitativa en tres diferentes escalas: grueso (G), regular (R) y delgado (D) para las dos diferentes especies derivado de un promedio calificativo de entre todas sus raíces.

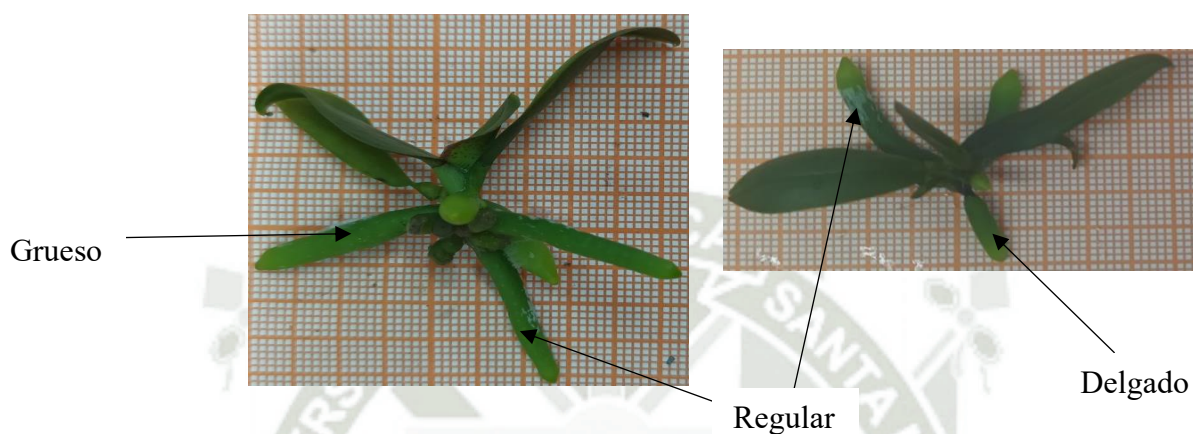


Figura 6 Clasificación de raíces según el grosor en híbrido *Phalaenopsis*

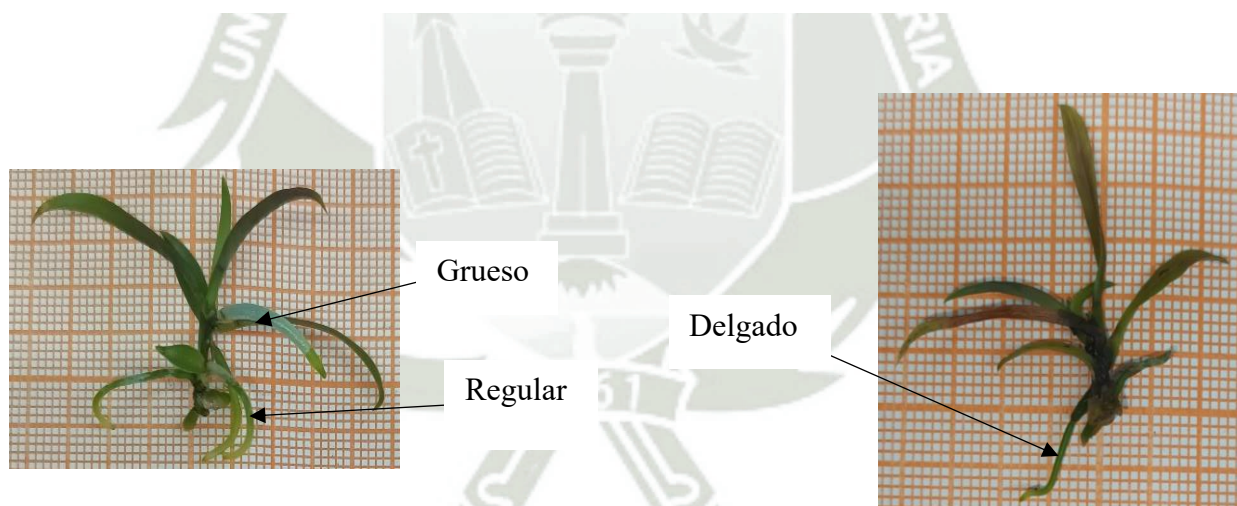


Figura 7 Clasificación de raíces según el grosor en híbrido *Epicattleya*

2.8 Diagrama de flujo de actividades

La secuencia de la metodología presenta en un diagrama de flujograma N °1 que corresponde en la figura 7, donde el agrupamiento de las actividades se representó mediante las líneas de flujo, ovalo para indicar el inicio y final de un proceso, hexágono

que indica preparación, el romboide indicando (entrada/salida de datos), rectángulo los procesos y el rombo para la toma de una decisión.

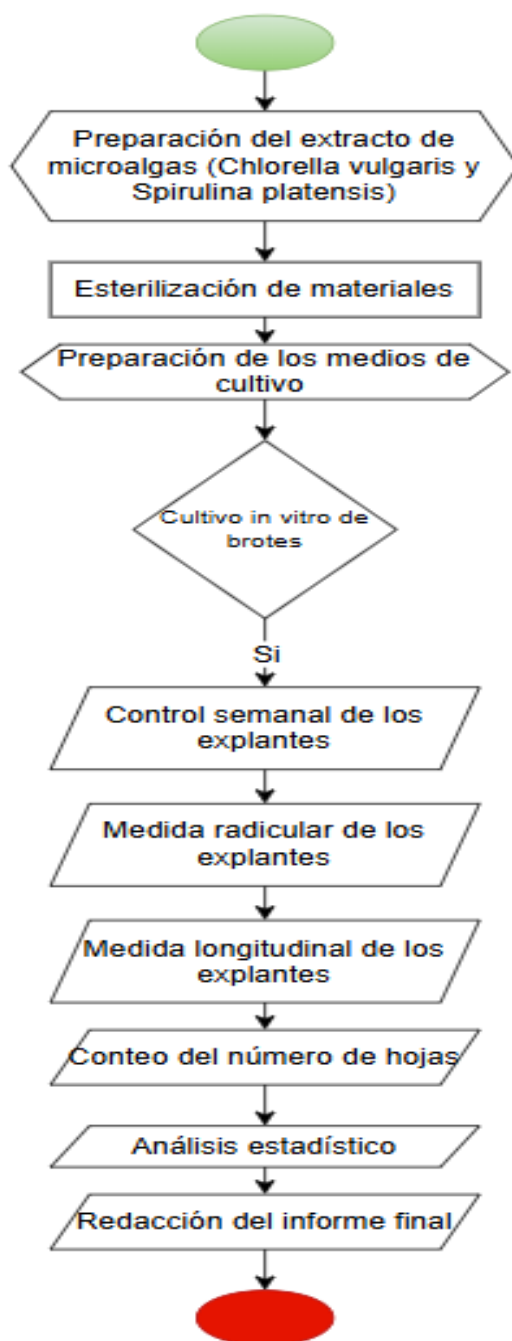


Figura 8 Diagrama de flujo del cultivo in vitro

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Evaluar el efecto bioestimulante a base de microalgas: *C. vulgaris* y *A. platensis* en el cultivo *in vitro* de *Phalaenopsis* híbrida y *Epicattleya*.

Después de 8 semanas de cultivo *in vitro* se obtuvieron los resultados a detallar posteriormente, se observó un crecimiento de raíces a los 7 primeros días de la evaluación en algunos frascos en las diferentes especies.

3.2 *Phalaenopsis*

3.2.1 Numero de hojas

Tabla 11 Análisis de varianza para el numero de hojas con la Concentración completa de medio MS

Fuente	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFFECTOS PRINCIPALES				
A: DOSIS	2	0.111111	0.26	0.7694
B: EXTRACTOS	2	0.194444	0.46	0.6339
RESIDUOS	31	0.420251		
TOTAL (CORREGIDO)	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

Según los datos estadísticos de ANOVA de la tabla N° 11, con la concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de hojas en contribuciones debido a varios factores en donde se puede apreciar los valores P prueban que no hay una diferencia significativa puesto que ningún valor P es menor que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

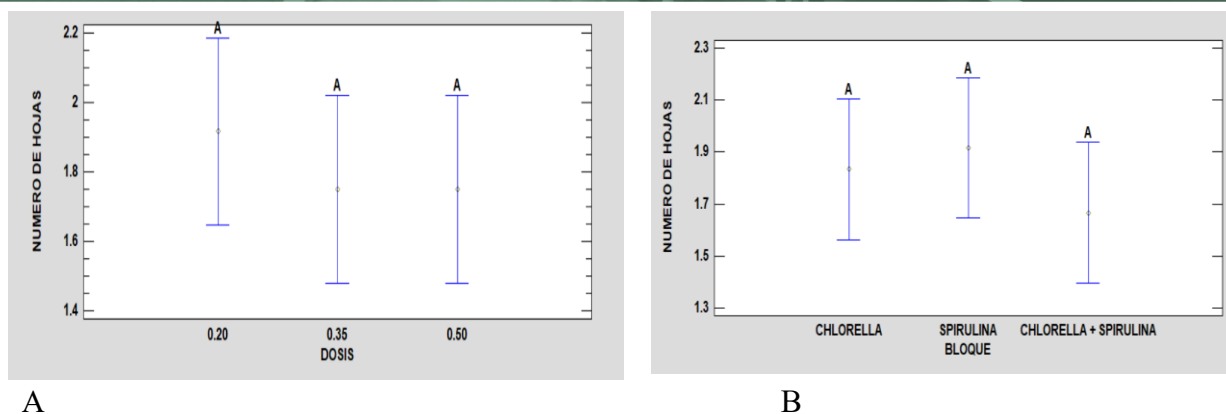


Figura 9 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el número de hojas con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

En la figura 8 el grafico A, demuestra que, a una menor dosis de las microalgas, dan mayor número de hojas, sin embargo, en el gráfico B denota que el uso de los tres extractos tiene una respuesta similar al número de nuevas hojas.

Según los datos estadísticos de ANOVA de la tabla 12, con la $\frac{1}{2}$ concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de hojas en contribuciones debido a varios factores en donde se puede apreciar los valores P prueban que no hay una diferencia significativa puesto que ningún valor P es menor que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza

Tabla 12 Análisis de varianza para el numero de hojas con la $\frac{1}{2}$ de concentración de medio MS

Fuente	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES				
A: DOSIS	2	1.75		
B: EXTRACTOS	2	0.0833333	2.4	0.1047
RESIDUOS	31	0.72043	0.12	0.8912
TOTAL (CORREGIDO)	35			

Para cada valor significativo, la prueba de rangos múltiples nos indica que las medias son significativamente diferentes de otras, como también la gráfica de medias nos ayudan a interpretar los efectos significativos.

Tabla 13 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Número de hojas con intervalos de confianza del 95.0%

<i>NIVEL</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MEDIA GLOBAL	36	1.66667			
DOSIS					
0.2	12	1.33333	0.245022	0.833606	1.83306
0.35	12	2.08333	0.245022	1.58361	2.58306
0.5	12	1.58333	0.245022	1.08361	2.08306
BLOQUE					
CHLORELLA	12	1.75	0.245022	1.25027	2.24973
ARTHROSPIRA	12	1.588333	0.245022	1.08361	2.08306
CHLORELLA + ARTHROSPIRA	12	1.66667	0.245022	1.16694	2.16639

En la tabla 13 para cada uno de los factores, muestra los errores estándar de cada media, el cual son una media de variabilidad en el muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95% para cada una de las medias. Pueden denotarse mediante el uso de gráficas A y B de la figura 8, en donde el gráfico B muestra la diferencia además del uso de las pruebas de múltiple de rangos para el número de hojas por dosis.

Tabla 14 Pruebas de múltiple Rangos para el número de hojas por Dosis

<i>DOSIS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.20	12	1.33333	0.245022	A
0.50	12	1.58333	0.245022	AB
0.35	12	2.08333	0.245022	B
	<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
	0.20 - 0.35	*	-0.75	0.706721
	0.20 - 0.50		-0.25	0.706721
	0.35 - 0.50		0.50	0.706721

* Indica una diferencia significativa

Las pruebas de múltiple de rangos para el numero de hojas por dosis como en la tabla 14, determina cual media son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha asignado un asterisco junto al par, que indica diferencia estadística significativa con un nivel del 95% de confianza. En la parte superior de se ha identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las letras en las columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de letras. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima (LSD) de Fisher. Donde hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

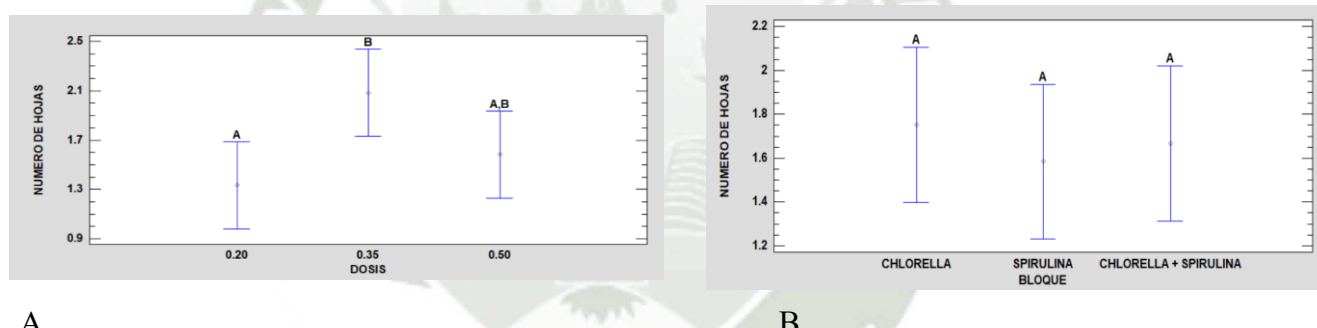


Figura 10 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el número de hojas con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

De manera específica, se ha reportado que, el extracto crudo de *Arthrospira platensis* como fuente de fitohormonas como giberelinas, kinetina y adeninas presentes en los extractos de *Chlorella* y *Arthrospira* estimulan el crecimiento de nuevas hojas en condiciones controladas en medio MS de concentración media con vitaminas en el cultivo *in vitro* de *Capparis cartilaginea* (53). En el proyecto, aunque el tipo de extracto no mostro diferencia significativas vistas en la tabla 11 y 12, se puede denotar que en la figura 9 a través del método empleado LSD, la variabilidad en el

número de hojas puede estar relacionada con la concentración de metabolitos activos modulada por la dosis.

3.2.2 Numero de raíces

Según los datos estadísticos de ANOVA de la tabla N° 15, con la concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de raíces en contribuciones debido a varios factores en donde se puede apreciar los valores P prueban que hay una diferencia significativa puesto que un valor P es menor que 0.05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el número de raíces, con un 95.0% de nivel de confianza.

Tabla 15 Análisis de varianza para el numero de raíces con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	6.22222	2	3.11111	3.65	0.0378
B: EXTRACTOS	0.888889	2	0.444444	0.52	0.599
RESIDUOS	26.4444	31	0.853047		
TOTAL (CORREGIDO)	33.5556	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla 15 presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) realizado para evaluar el efecto de las dosis de extractos microalgales y el tipo de extracto (*Chorella vulgaris* y *Arthrospira platensis*) sobre el número de raíces en híbridos de orquídeas cultivados en medio MS completo. El factor dosis mostro un efecto estadísticamente significativo ($p = 0.0378 < 0.05$), indicando que variaciones en la concentración de

extractos han de impactar en el número de raíces formadas. En contraste, el factor tipo de extracto no presentó diferencias significativas ($p = 0.599$).

El análisis sugiere que la concentración de extracto microalgal influye significativamente en la inducción de raíces en híbridos *Phalaenopsis* y *Epicattleya*. Estos hallazgos concuerdan con estudios previos en el artículo “*Arthrospira platensis* extract improves the production and defenses of the common bean grown in a heavy metals-contaminated saline soil” del autor Mostafa en el año 2023 donde la aplicación de bioestimulantes derivados de microalgas ha mejorado la producción y las defensas del frijol común en suelos salinos contaminados como también en la formación radicular de estos mismos (54).

La tabla 16 muestra la media del número de raíces para cada uno de los niveles de los factores, como los errores estándar de cada media, el cual es una media de variabilidad en el muestreo.

Tabla 16 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Número de raíces con intervalos de confianza del 95.0%

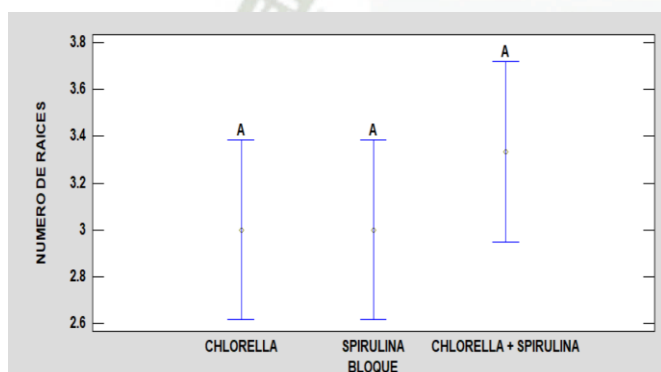
NIVEL	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	36	3.11111			
DOSIS					
0.2	12	3.66667	0.266622	3.12289	4.21045
0.35	12	2.66667	0.266622	2.12289	3.21045
0.5	12	3.0	0.266622	2.45622	3.54378
BLOQUE					
CHLORELLA	12	3.0	0.266622	2.45622	3.54378
ARTHROSPIRA	12	3.0	0.266622	2.45622	3.54378
CHLORELLA + ARTHROSPIRA	12	3.33333	0.266622	2.78955	3.87711

Tabla 17 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de raíces por Dosis

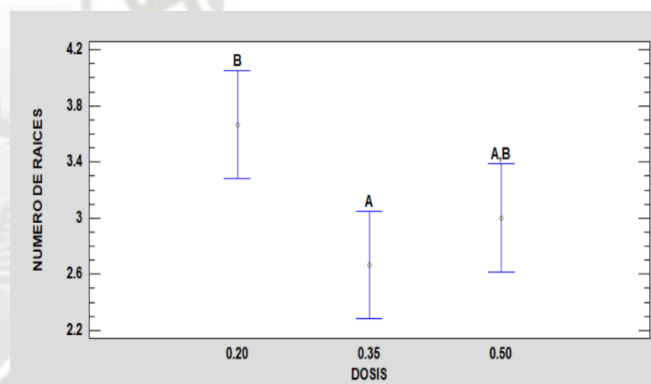
DOSIS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0.35	12	2.66667	0.266622	A
0.5	12	3.0	0.266622	AB
0.2	12	3.66667	0.266622	B

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
<i>0.20 - 0.35</i>	*	1.0	0.769021
<i>0.20 - 0.50</i>		0.666667	0.769021
<i>0.35 - 0.50</i>		-0.333333	0.769021

Como anteriormente explicado las pruebas de múltiple de rangos para el numero de raíces por dosis como en la tabla 17, determinan cual media son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha asignado un asterisco junto al par , que indica diferencia estadística significativa con un nivel del 95% de confianza, además de denotarse en la Figura 10.



A



B

Figura 11 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de raíces con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

Los datos estadísticos de ANOVA de la tabla 18, con la ½ concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de raíces en contribuciones debido a varios factores (Dosis y Extractos), en donde se puede apreciar los valores P prueban que no hay una diferencia significativa puesto que ningún valor P es menor que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza

Tabla 18 Análisis de varianza para el número de raíces con la $\frac{1}{2}$ de concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	5.38889	2	2.69444	1.26	0.2973
B: EXTRACTOS	8.72222	2	4.36111	2.04	0.1468
RESIDUOS	66.1944	31	2.1353		
TOTAL (CORREGIDO)	80.3056	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

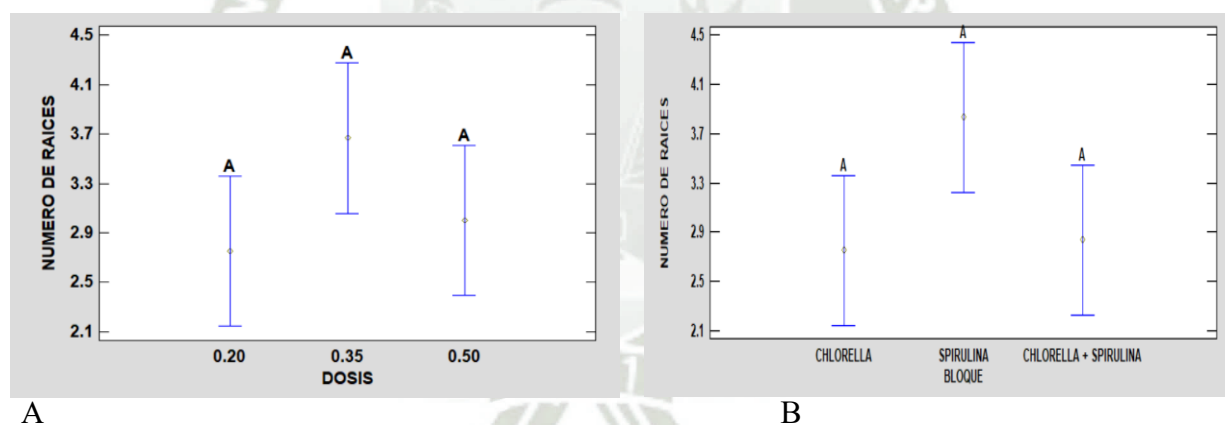


Figura 12 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el número de raíces con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

Con el análisis de la figura 11 en los gráficos A y B, se observa que no hay una diferencia significativa en el empleo entre los distintos extractos como las diferentes dosificaciones, para el número de raíces.

Es importante resaltar que a una dosis de 0.35% y el empleo del extracto de *Arthrospira* puede estar relacionada a mejores resultados en comparación de los

demás extractos, para el crecimiento del número de raíces en *Phalaenopsis* híbrida. Según Hamouda et al. (55) el uso del extracto de *Arthrospira* en condiciones salinas (agua de mar), evidencia que el crecimiento de raíces aumentó significativamente en concentraciones de 1%, 2% y 4% con el tratamiento de extracto líquido de *Arthrospira* (SLE) en *Triticum aestivum* L. tanto en plántulas en concentraciones altas, a través de la aplicación foliar y como en semillas en germinación en las concentraciones más bajas en placas petri con 5.0 mL de SLE, debido a los contenidos proteicos, vitaminas, minerales de la *Arthrospira*.

3.2.3 Crecimiento radicular

En la evaluación del promedio de la longitud del crecimiento longitudinal de las raíces en las dos concentraciones de medio MS completo y 1/2 MS, se realizó a través de los datos estadísticos del ANOVA.

Tabla 19 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.230172	2	0.115086	0.75	0.4816
B: EXTRACTOS	0.129489	2	0.0647444	0.42	0.6602
RESIDUOS	4.76869	31	0.153829		
TOTAL (CORREGIDO)	5.12836	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

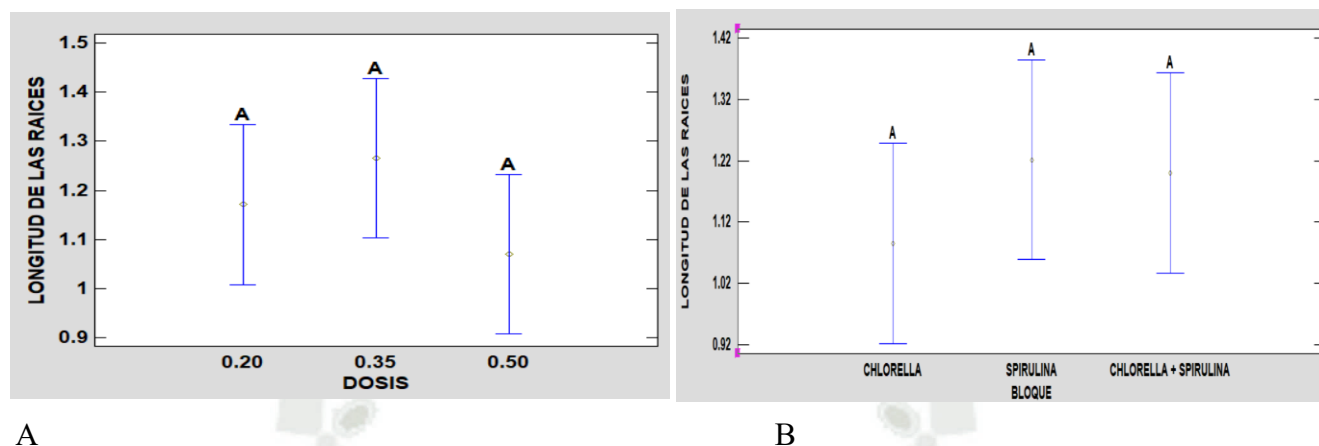


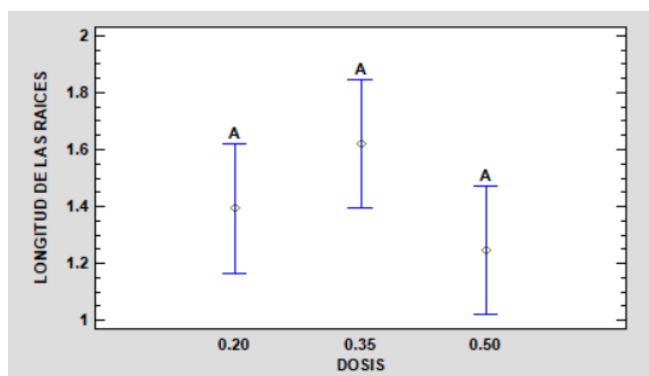
Figura 13 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces con la concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

Para el análisis de varianza de los factores sobre el promedio longitudinal del crecimiento de raíces con la $\frac{1}{2}$ de concentración del medio MS, se realizó a través de las pruebas F en la tabla ANOVA que permite identificar los factores significativos.

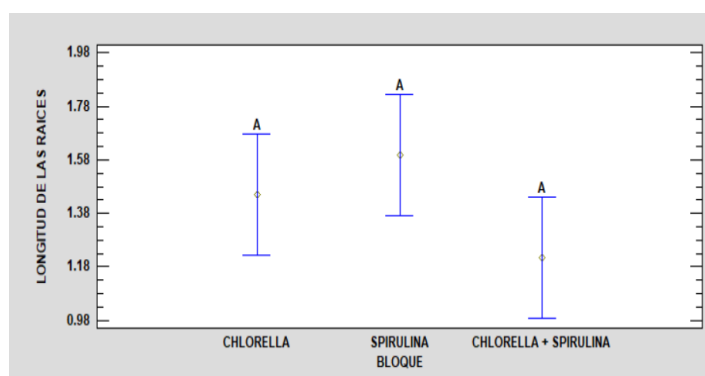
Tabla 20 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.85431	2	0.427155	1.43	0.2542
B: EXTRACTOS	0.897747	2	0.448873	1.50	0.2379
RESIDUOS	9.24851	31	0.298339		
TOTAL (CORREGIDO)	11.0006	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual



A



B

Figura 14 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

En comparación con ambas figuras 12 y 13 se reporta que a una menor concentración de medio MS, puede tener relación con un mayor crecimiento longitudinal de raíces, es importante mencionar que mediante las diferentes concentraciones de medios MS y $\frac{1}{2}$ MS más la suplementación del extracto de *Arthrospira*, se obtuvo un mejor crecimiento a una dosis de 0.35% de concentración, esta respuesta puede depender de la sensibilidad del híbrido como de los compuestos bioactivos (lípidos, ácido palmítico, ácidos grasos, entre otros), presentes en el extracto líquido de *Arthrospira platensis*, tal como fue descrito en la investigación de “*Bioactive fatty acids and compounds from Arthrospira (Arthrospira) platensis: Potential as biostimulants for plant growth*” del autor Dmytryk en Polonia en el año 2022, aplicado en las pruebas de germinación de granos de trigo de invierno (56).

3.2.4 Grosor de raíz

Se reporto de manera cualitativa el grosor de raíces de la especie híbrida *Phalaenopsis* por cada tipo de extracto (*Chlorella*, *Arthrospira* y *Chlorella* + *Arthrospira*) usado en sus diferentes concentraciones (0.2%, 0.35% y 0.50%), como el diferente tipo de concentración de medio usado (MS completo y $\frac{1}{2}$ MS). Como

también en los diferentes controles que se usó en las diferentes concentraciones de medio como el medio comercial para una comparativa en los resultados.

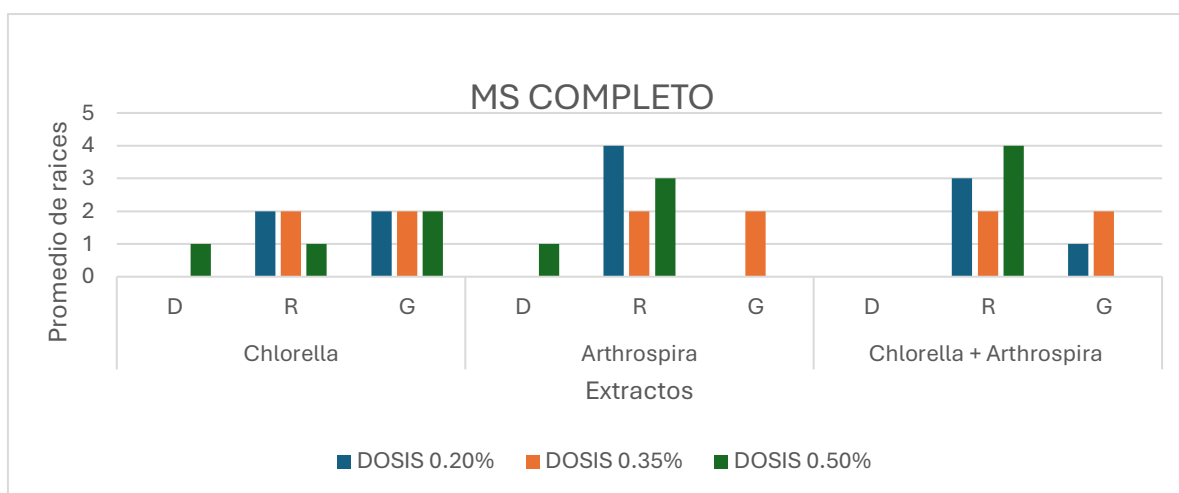


Figura 15 Grosor de raíces en el medio MS completo de la especie híbrida *Phalaenopsis*

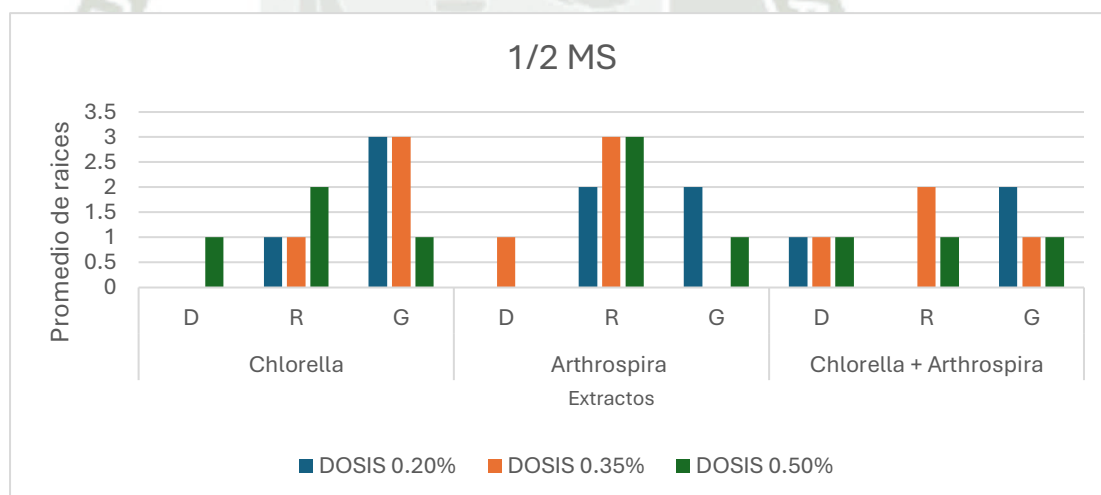


Figura 16 Grosor de raíces en $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS de la especie híbrida *Phalaenopsis*

Se analizó la figura 14 y 15 donde el medio $\frac{1}{2}$ MS obtuvo el mayor número de raíces regulares y gruesas en comparación del medio completo MS, a dosis bajas (0.20-0.35%) con el extracto de *Chlorella vulgaris* y en caso de *Arthrospira platensis* raíces regulares en dosis (0.35-0.50%) ya que son las dosis más elevadas en el medio,

al comparar con la investigación que realizó (Adi et al. 2023), reportó que a mayores dosis del extracto de la microalga de *Arthrospira* obtuvo mayor número y peso de raíces de Pak Choy, indicando que el uso de esta microalga como nutrición orgánica posee un valor potencial de mejorar el medio de nutrición alternativo. Además, que comparación de ambos medios con sus diferentes suplementos microalgales indican mejores respuestas que los controles sin el uso de las microalgas (57).

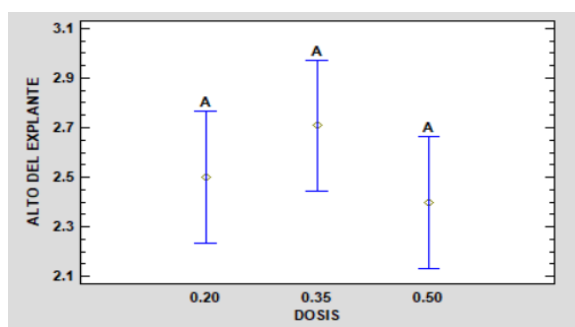
3.2.5 Alto de los explantes

Tabla ANOVA para evaluar si los factores tienen significancia en el crecimiento del alto de los explantes con la concentración completa de MS.

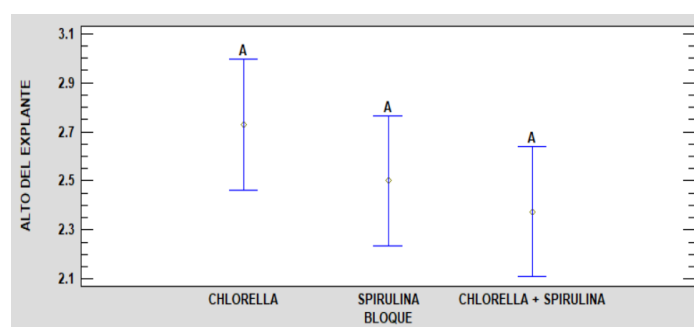
Tabla 21 Análisis de varianza para el alto de los explantes con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.607639	2	0.303819	0.75	0.4829
B: EXTRACTOS	0.774306	2	0.387153	0.95	0.3978
RESIDUOS	12.6372	31	0.40765		
TOTAL (CORREGIDO)	14.0191	35			

Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual



A



B

Figura 18 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

La tabla 21 presenta los resultados del análisis de varianza (ANOVA) realizado para evaluar el efecto de la dosificación y los diferentes tipos de extractos microalgales (*Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis*) para el alto de los explantes en híbridos de *Phalaenopsis* híbrida cultivados en medio MS completo. El factor dosis y tipo de extracto no mostro un efecto significativo, indicando que no hubo variaciones en la concentración de extractos que impactaran en el alto de los explantes. Cabe resaltar que si evidencio un mejor crecimiento en alto de las de las plántulas con el extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* a dosis de 0.35% en comparación de los demás extractos como en su diferente dosis después de las ocho semanas de crecimiento.

Tabla ANOVA para la $\frac{1}{2}$ de concentración de medio MS muestra el análisis de varianza realizado para evaluar si algun factor tiene efecto significativo. Con un nivel del 95% sobre el alto de los explantes en el híbrido *Phalaenopsis*.

Tabla 22 Análisis de varianza para el alto de los explantes con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.0451389	2	0.0225694	0.03	0.9693
B: EXTRACTOS	1.17014	2	0.585069	0.81	0.4540
RESIDUOS	22.3872	31	0.722166		
TOTAL (CORREGIDO)	23.6024	35			

Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

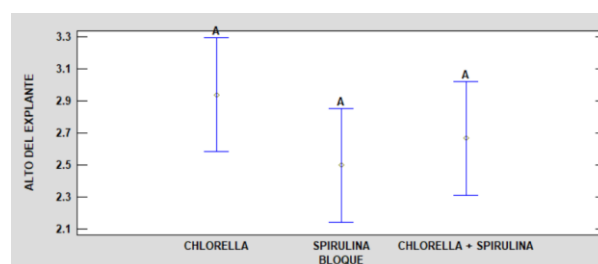
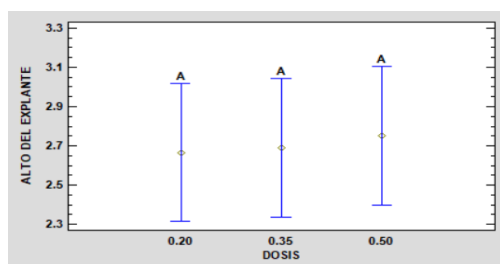


Figura 19 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

En este estudio en las ambas concentraciones diferentes de medio MS, se puede reflejar que el crecimiento en altura de los explantes no han mostrado ninguna diferencia significativa entre el tipo de extractos usados como en sus distintas dosificaciones los tres tipos de extractos han demostrado tener un similar comportamiento nutricional en el crecimiento del explante, en un estudio realizado por Adi en el año 2023 uso *Arthrospira platensis* como reemplazo nutricional en un sistema hidropónico de cultivo para Pak Choy obtuvo un mayor número de hojas como mayor altura de las plantas. (58)

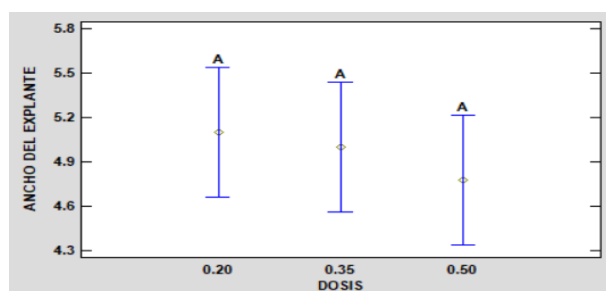
3.2.6 Ancho de los explantes

Tabla ANOVA para evaluar si los factores tienen un efecto significativo con el ancho de los explantes usando el medio completo de MS

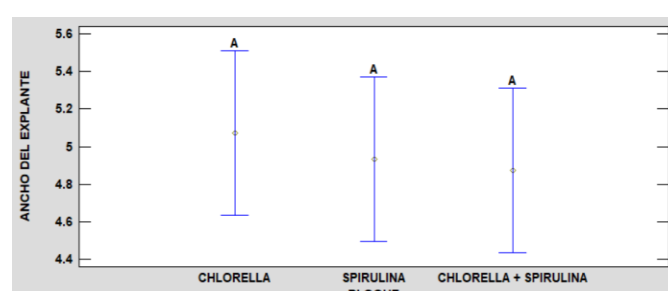
Tabla 23 Análisis de varianza para el ancho de los explantes con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.646806	2	0.323403	0.29	0.7477
B: EXTRACTOS	0.242639	2	0.121319	0.11	0.8961
RESIDUOS	34.1647	31	1.10209		
TOTAL (CORREGIDO)	35.0541	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual



A



B

Figura 20 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el ancho de los explantes con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

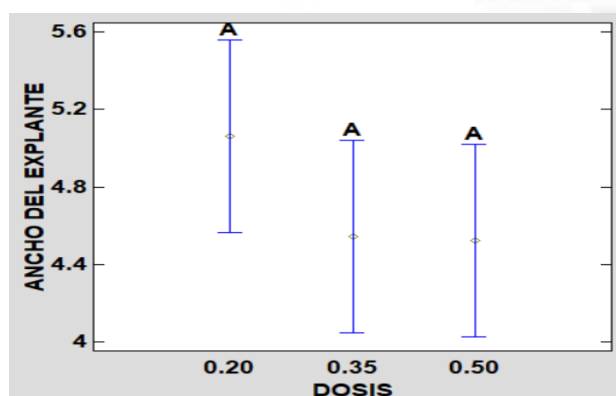
La tabla 23 y 24 presentan los resultados obtenidos de los análisis de varianza realizado para evaluar el efecto de la dosis de extractos microalgales y el tipo de extracto sobre el crecimiento del ancho de los explantes en las dos concentraciones de MS en cultivo *in vitro*.

Tabla ANOVA para evaluar si los factores tienen un efecto significativo con el ancho de los explantes usando el medio ½ de MS

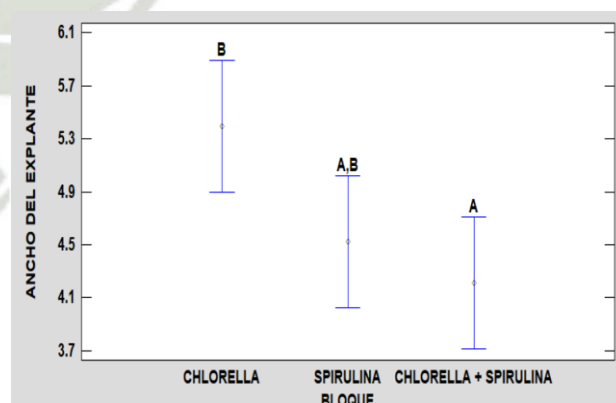
Tabla 24 Análisis de varianza para el ancho de los explantes con la ½ Concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	2.26042	2	1.13021	0.79	0.4617
B: EXTRACTOS	9.09375	2	4.54688	3.19	0.0551
RESIDUOS	44.2083	31			1.42608
TOTAL (CORREGIDO)	55.5625	35			

* Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual



A



B

Figura 21 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el ancho de los explantes con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

El análisis sugiere que la dosis y los diferentes tipos de los extractos microalgales no influyen significativamente en el crecimiento del ancho de los explantes, en el híbrido *Phalaenopsis* en medio MS completo. Cabe resaltar que se observó una diferencia con el uso de las diferentes concentraciones de medio de cultivo, reportando $\frac{1}{2}$ MS tener una mejor respuesta de crecimiento, con el uso de *Chlorella vulgaris*, esta respuesta puede depender debido a que las microalga secreta estimulantes de crecimiento como auxinas, citoquininas, etileno, giberelinas y ácido abscísico, tal como fue descrito en “*Application of Chlorella vulgaris Beijerinck as a biostimulant for growing cucumber seedlings in Hydroponics*” mencionado por Vildanova en Rusia en el año 2023 (59)

3.2.7 Número brotes

El número de crecimiento de brotes en la especie *Phalaenopsis*, reportó solo cuatro, en el tratamiento con el medio completo MS + *Chlorella* al 0.20% y 0.35%; en control del medio MS completo y $\frac{1}{2}$ MS. Dando que en esta especie no hubo un buen reporte de crecimiento de brotes

3.2.8 Disposición de brotes

El crecimiento de los únicos brotes en esta especie solo reportó crecimiento profundo de brotes de los cuatro diferentes tratamientos anteriormente mencionados.

3.3 *Epicattleya*

3.3.1 Número de hojas

Según los datos estadísticos de ANOVA de la tabla 25, con la concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de hojas en contribuciones debido a varios factores en donde se puede apreciar los valores P

prueban que no hay una diferencia significativa puesto que ningún valor P es menor que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza

Tabla 25 Análisis de varianza para el numero de hojas en Epicattleya con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.166667	2	0.0833333	0.06	0.9392
B: EXTRACTOS	3.5	2	1.75	1.32	0.2816
RESIDUOS	41.0833	31	1.32527		
TOTAL (CORREGIDO)	44.75	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

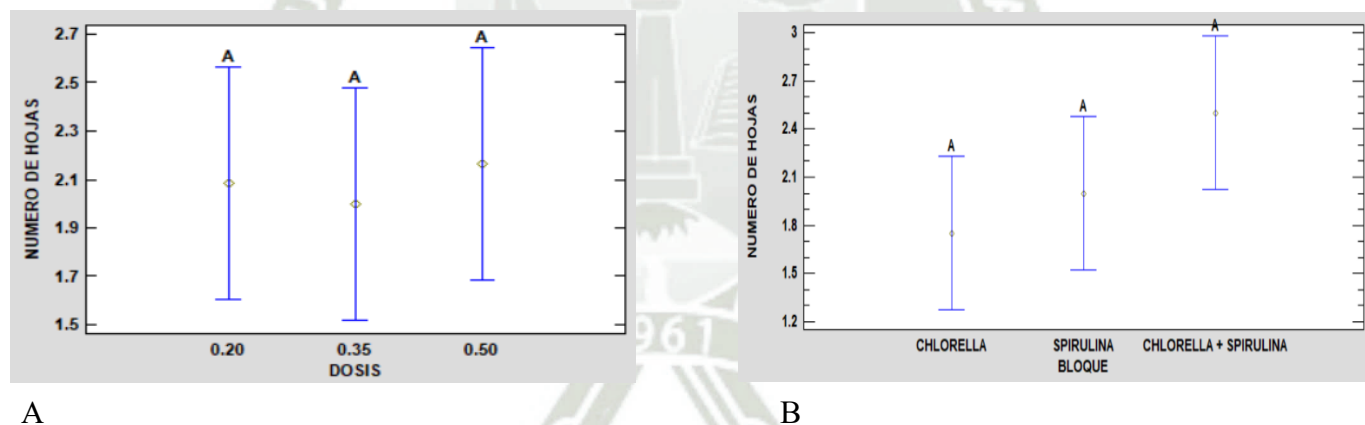


Figura 22 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de hojas en Epicattleya con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

La tabla 26, con la ½ concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de hojas en la especie *Epicattleya*.

Tabla 26 Análisis de varianza para el numero de hojas en Epicattleya con la ½ de concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	4.22222	2	2.11111	2.93	0.0685
B: EXTRACTOS	7.05556	2	3.52778	4.89	0.0143
RESIDUOS	22.3611	31	0.721326		
TOTAL (CORREGIDO)	33.6389	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

En la tabla 26 el factor extracto, presenta un valor p menor a 0.05, es por ello que se realizó para cada valor significativo. La prueba de rangos múltiples nos indica que las medias son significativamente diferentes de otras, como también la gráfica de medias que nos ayudan a interpretar los efectos significativos.

Tabla 27 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Número de hojas en Epicattleya con intervalos de confianza del 95.0%

NIVEL	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	36	2.69444			
DOSIS					
0.2	12	3.08333	0.245174	2.5833	3.58337
0.35	12	2.75	0.245174	2.24996	3.25004
0.5	12	2.3	0.245174	1.74996	2.75004
BLOQUE					
CHLORELLA	12	2.2	0.245174	1.66663	2.6667
ARTHROSPIRA	12	3.3	0.245174	2.74996	3.75004
CHLORELLA + ARTHROSPIRA	12	2.66667	0.245174	2.16663	3.1667

En la tabla 27 para cada uno de los factores. Muestra el error estándar de cada media.

El cual es una media de variabilidad en el muestreo. Los límites muestran los intervalos de confianza del 95% para cada una de las medias, ya que pueden

denotarse mediante el uso de las pruebas de múltiple de rangos para el numero de hojas por dosis y por el tipo de extracto usado. Aquí tambien se determina cuál de las medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias- por lo que se asignado un asterisco junto a los pares que indican diferencia estadística significativa con un nivel del 95% de confianza. En los grupos homogéneos según la alineación de las letras se determina si hay o no diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de letras. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima (LSD) de Fisher. Donde hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 28 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de hojas en Epicattleya por Dosis

DOSIS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0.5	12	2.25	0.245174	A
0.35	12	2.75	0.245174	AB
0.2	12	3.08333	0.245174	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0.20 - 0.35		0.333333	0.70716
0.20 - 0.50	*	0.833333	0.70716
0.35 - 0.50		0.5	0.70716

* Indica una diferencia significativa

Las pruebas de múltiple de rangos para el numero de hojas en *Epicattleya* tanto para dosis como los extractos se muestran en la tabla 28 y 29, en el cual se ha de determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha asignado un asterisco junto al par , que indica diferencia estadística significativa con un nivel del 95% de

confianza. En la parte superior de se ha identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las letras en las columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de letras. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima (LSD) de Fisher. Donde hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 29 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de hojas en *Epicattleya* por Extractos

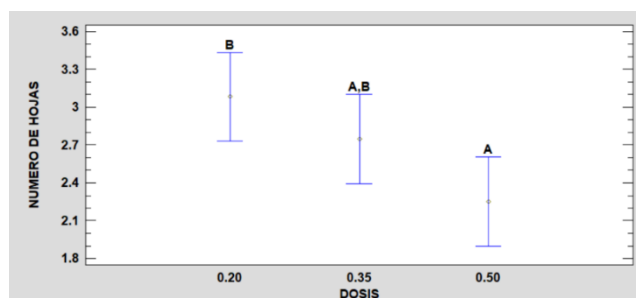
Extractos	Casos	Media ls	Sigma ls
<i>Chlorella</i>	12	2.16667	0.245174
<i>Chlorella + Arthrospira</i>	12	2.67	0.245174
<i>Arthrospira</i>	12	3.25	0.245174

Extractos	Grupos homogéneos
<i>Chlorella</i>	A
<i>Chlorella + Arthrospira</i>	Ab
<i>Arthrospira</i>	b

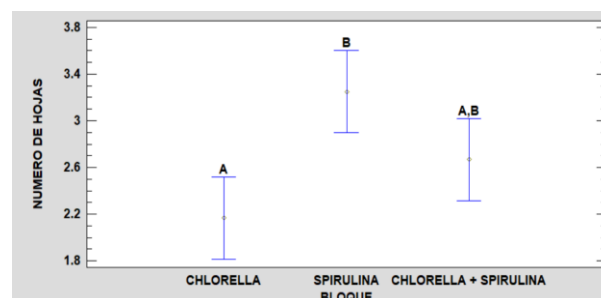
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- límites
<i>Chlorella - Arthrospira</i>	*	-1.083330	0.70716
<i>Chlorella - Chlorella + Arthrospira</i>		-0.5	0.70716
<i>Arthrospira - Chlorella + Arthrospira</i>		0.583333	0.70716

* Indica una diferencia significativa

* Las gráficas de medias pueden desplegar estas medias e intervalos seleccionados.



A



B

Figura 23 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de hojas en *Epicattleya* con la $\frac{1}{2}$ Concentracion de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

El análisis sugiere que el uso de los diferentes extractos afecta en el promedio del número de hojas, este hallazgo con el uso del extracto de *Chlorella* en el medio de cultivo a concentración media puede estar relacionada con el escaso crecimiento de hojas del híbrido *Epicattleya*, puesto que en comparación con el estudio realizado por Pereira et al 2018 se vio afectada positivamente por el suplemento añadido de *Chlorella* sorokiniana reflejada en el desarrollo de más hojas como tener un valor promedio más alto para la longitud de las hojas. (60)

3.3.2 Número de raíces

Según los datos estadísticos de ANOVA de la tabla 30, con la concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de raíces de *Epicattleya* en contribuciones debido a varios factores en donde se puede apreciar los valores P prueban que hay una diferencia significativa puesto que un valor P es menor que 0.05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el número de raíces, con un 95.0% de nivel de confianza.

Tabla 30 Análisis de varianza para el numero de raíces de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	2.38889	2	1.19444	1.35	0.2743
B: EXTRACTOS	8.72222	2	4.36111	4.93	0.0139
RESIDUOS	27.4444	31	0.885305		
TOTAL (CORREGIDO)	38.5556	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla 30 muestra la media del número de raíces de la especie *Epicattleya* para cada uno de los niveles de los factores, como los errores estándar de cada media, el cual es una media de variabilidad en el muestreo.

Tabla 31 Pruebas de múltiple Rangos para el numero de raíces en *Epicattleya* por Extractos

Extractos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
<i>Arthrospira</i>	12	0.916667	0.271616	A
<i>Chlorella</i>	12	1.92	0.271616	B
<i>Chlorella + Arthrospira</i>	12	2	0.271616	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
CHLORELLA - ARTHROSPIRA	*	1.000000	0.783426
CHLORELLA - CHLORELLA + ARTHROSPIRA		-0.083333	0.783426
ARTHROSPIRA - CHLORELLA + ARTHROSPIRA	*	-1.08333	0.783426

* Indica una diferencia significativa

Como anteriormente explicado las pruebas de múltiple de rangos para el numero de raíces por dosis y diferente tipo de extractos como en la siguiente tabla, determinan cual media son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha asignado un asterisco junto al par , que indica diferencia estadística significativa con un nivel del 95% de confianza, además de denotarse en los siguientes gráficos.

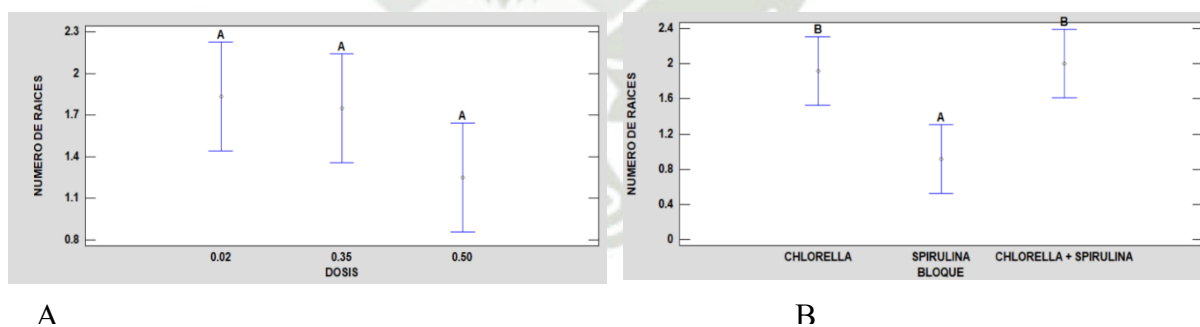


Figura 24 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de raíces de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

Según los datos estadísticos de ANOVA de la tabla 32, con la ½ concentración completa de Murashige Skoog descompone la variabilidad del número de raíces de *Epicattleya* en contribuciones es debido a varios factores (Dosis y Extractos), en

donde se puede apreciar los valores P prueban que no hay una diferencia significativa puesto que ningún valor P es menor que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza

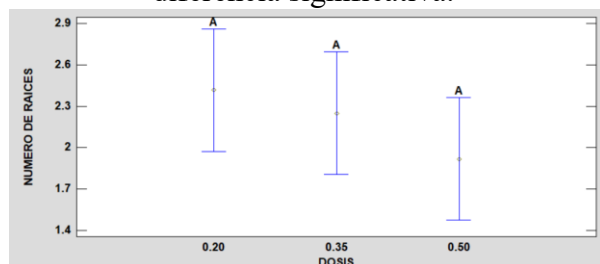
Tabla 32 Análisis de varianza para el numero de raíces de *Epicattleya* con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	1.55556	2	0.777778	0.68	0.5131
B: EXTRACTOS	2.72222	2	1.36111	0.19	0.3168
RESIDUOS	35.3611	31	1.14068		
TOTAL (CORREGIDO)	39.6389	35			

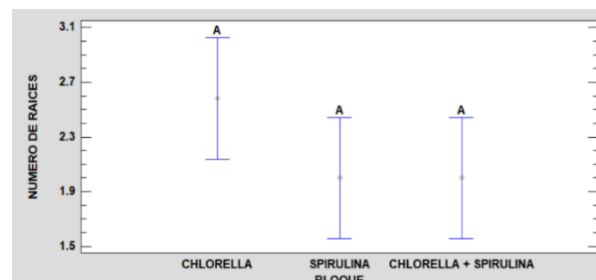
*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla 32 presenta los resultados del análisis de varianza realizado para evaluar el efecto de las dosis de extractos microalgales y el tipo de extracto (*Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis*) sobre el número de raíces en el híbrido de orquídea cultivado en medio MS completo. Los factores dosis y extractos no mostraron algun efecto estadísticamente significativo, el cual indica que la variación de la concentración de los extractos como el factor tipo de extractos no impactan en el número de raíces.

Con la ayuda de los gráficos se puede observar que no es necesario realizar la prueba de múltiples rangos para en número de raíces ya que no se puede observar ninguna diferencia significativa.



A



B

Figura 25 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el numero de raíces de *Epicattleya* con la $\frac{1}{2}$ Concentracion de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

El extracto de *Chlorella vulgaris* en los dos tipos de concentración de medios pueden estar relacionados a tener un mayor promedio en el número de raíces, este resultado difiere con el estudio realizado por Puglisi et al. 2022 ya que usó plántulas de lechuga, reportó que el extracto de *Chlorella vulgaris* afectó positivamente en la morfología de las plántulas de lechuga, sea cualquier método de aplicación de Drench o aspersión foliar usado en su investigación, tanto en el aumento del número de hojas, altura de sus plántulas y sobre la longitud de la raíz. (61)

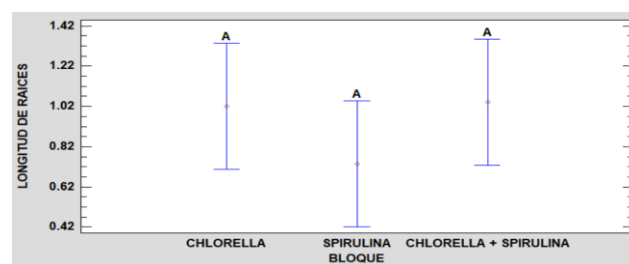
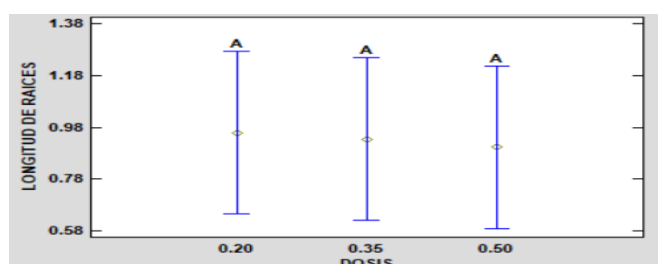
3.3.3 Crecimiento radicular

En la evaluación del promedio de la longitud del crecimiento longitudinal de las raíces en las dos concentraciones de medio completo y 1/2 MS del híbrido *Epicattleya*, se realizó a través de los datos estadísticos del ANOVA.

Tabla 33 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.0193556	2	0.0096778	0.02	0.983
B: EXTRACTOS	0.695089	2	0.347544	0.62	0.5464
RESIDUOS	17.4821	31	0.563939		
TOTAL (CORREGIDO)	18.1966	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual



A

B

Figura 26 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

Los gráficos A y B de la figura 25 muestran que no hay diferencia significativa, con las diferentes concentraciones como los tipos de extractos usados, el cual puede deberse a que el uso de los extractos sin importar su dosis no mostrara alguna variabilidad en el crecimiento longitudinal de las raíces en el híbrido *Epicattleya*.

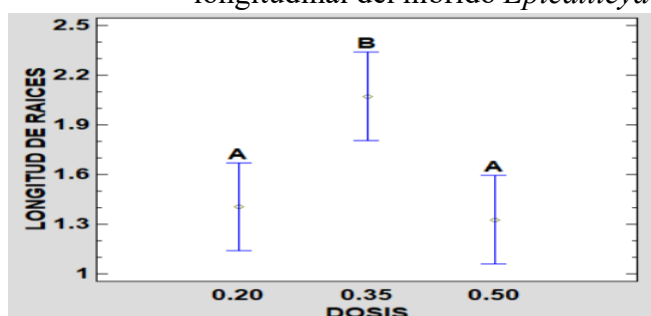
Para el análisis de varianza de los factores sobre el promedio longitudinal del crecimiento de raíces de los híbridos de *Epicattleya* con la $\frac{1}{2}$ de concentración del medio MS.

Tabla 34 Análisis de varianza para el promedio longitudinal de raíces de *Epicattleya* con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS

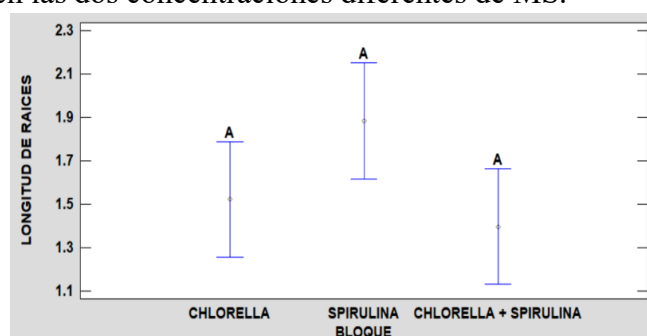
Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	4.01302	2	2.00651	4.9	0.0141
B: EXTRACTOS	1.53152	2	0.765758	1.87	0.1710
RESIDUOS	12.691	31	0.409386		
TOTAL (CORREGIDO)	18.2355	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla 33 y 34 presentan los resultados ANOVA realizado para estimar el efecto de la dosis de extractos microalgales y el tipo de extractos sobre el promedio longitudinal del híbrido *Epicattleya* en las dos concentraciones diferentes de MS.



A



B

Figura 27 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el promedio longitudinal de raíces de *Epicattleya* con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

En el figura 26, grafico A, usando el medio $\frac{1}{2}$ MS, el análisis sugiere que sin importar que tipo de extracto se use, no mostro diferencia en la variabilidad del crecimiento longitudinal de las raíces, pero si el tipo de dosificación en la que usa, el extracto de *Chlorella* como la combinación de las dos microalgas pueden estar relacionados al crecimiento longitudinal de raíces en este estudio, estos hallazgos difieren con estudios del Corbellini en el año 2020 donde el cultivo de *Cattleya labiata* usando el extracto de *Chlorella* en el tratamiento con $\frac{1}{2}$ MS, reporto tener un mejor crecimiento longitudinal de raíces a una concentración de 0.5 g/L^{-1} (62). Sin embargo, esta respuesta puede cambiar de la especie tratada, ya que, en comparación con el estudio de Zhang, el crecimiento de raíces en plántulas de trigo, con la suplementación de extracto de *Chlorella sp*, provoco la disminución del número de raíces fibrosas como su alargamiento (63).

3.3.4 Grosor de raíz

Se reporto de manera cualitativa el grosor de raíces de la especie hybrida *Epicattleya* en cada tipo de extracto (*Chlorella*, *Arthrospira* y *Chlorella + Arthrospira*) usado en sus diferentes concentraciones (0.20%, 0.35% y 0.50%), como los diferentes tipos de concentración de medio usados (MS completo y $\frac{1}{2}$ MS) y los diferentes controles que se usó en las diferentes concentraciones de medio, como el medio comercial para una comparativa en los resultados

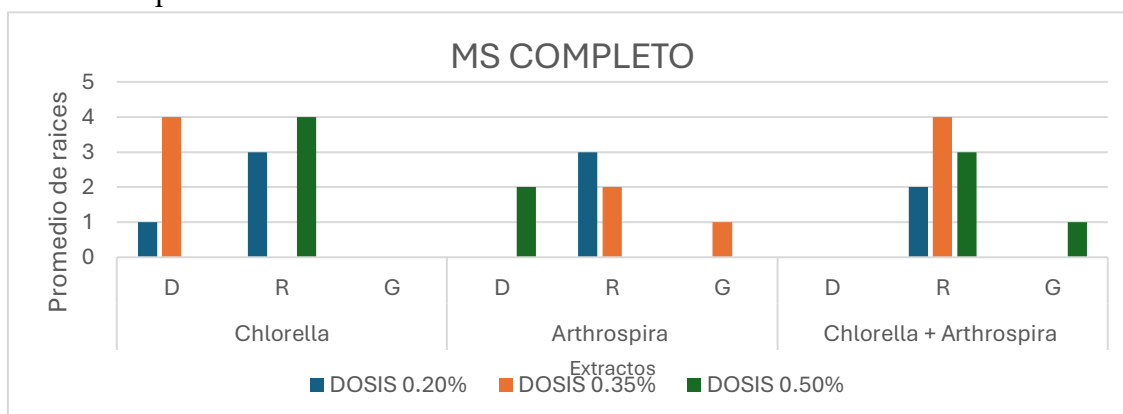


Figura 28 Grosor de raíces con la Concentracion completa de medio MS de la especie hybrida *Epicattleya*

La figura 27 presenta los resultados obtenidos en la evaluación del efecto de la dosis de extractos microalgales y el tipo de extracto sobre el grosor de las raíces obtenidas en el híbrido *Epicattleya*.

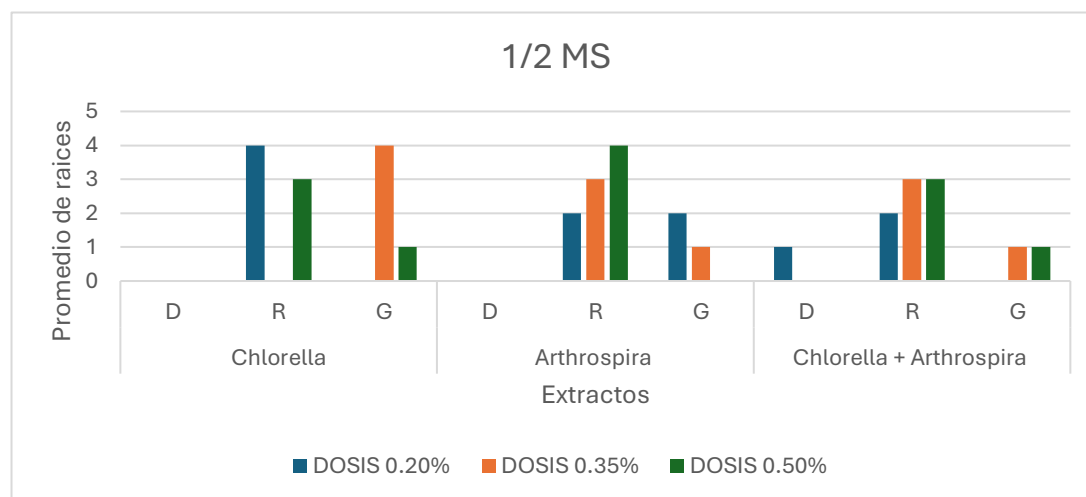


Figura 29 Grosor de raíces en $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS de la especie híbrida *Epicattleya*

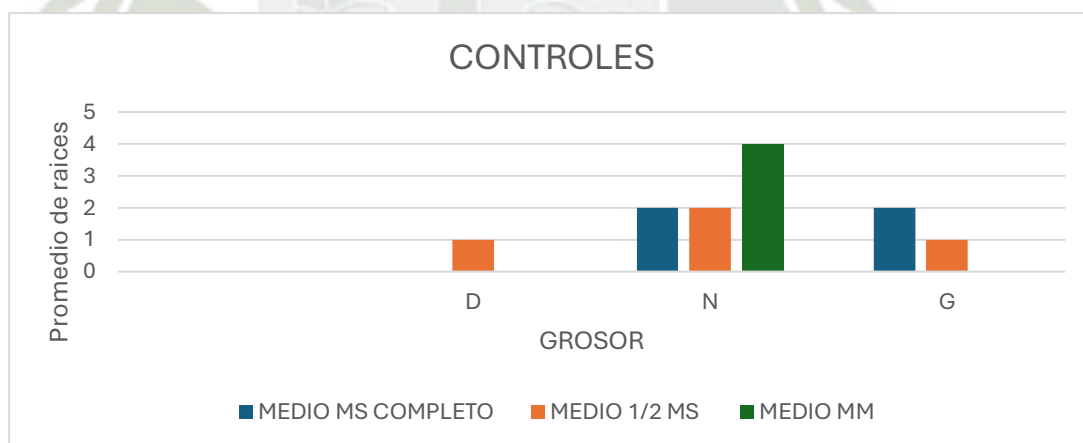


Figura 30 Grosor de raíces de los controles en los diferentes tipos medios en especie híbrida *Epicattleya*

Las figuras 27 y 28 sugieren que el uso de los distintos extractos microalgales, influyen en el engrosamiento de las raíces del híbrido *Epicattleya*, esta comparación se vio reflejada con los controles de la figura 29, este hallazgo concuerda con estudios previos en los distintos tratamientos de cebado o pulverización del extracto

de *Arthrospira* del autor Shedeed en el año 2022, el cual reporto un aumento significativo de peso fresco y seco como la longitud de los brotes y las raíces de *Lupinus luteus*, debido al aumento del nivel de fitohormonas el cual fue comparable con su control, esta aplicación del extracto se dio mediante acondicionamiento o pulverización foliar (64). De manera específica, se ha reportado que una mezcla de consorcios microalgales en fase de enraizamiento *in vitro* en segmentos nodales de la planta inoculados en medio MS, reporto tener una diferencia significativa en el aumento radicular entre las plantas tratadas del estudio más la suplementación del consorcio de microalgas y el aceite esencial de tomillo con las de su control realizado por Chaouch et al. en el año 2023 en las plántulas de fresa (variedad Camarosa) (65).

3.3.5 Alto de los explantes

Tabla ANOVA para evaluar si los factores tienen significancia en el crecimiento del alto de los explantes de *Epicattleya* con la concentración completa de MS

Tabla 35 Análisis de varianza para el alto de los explantes de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.07125	2	0.035625	0.12	0.8834
B: EXTRACTOS	1.27542	2	0.637708	2.23	0.1248
RESIDUOS	8.87521	31	0.286297		
TOTAL (CORREGIDO)	10.2219	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla 38 muestra la media del crecimiento del alto de los explantes de *Epicattleya* para cada uno de los niveles de los factores, como los errores estándar de cada media, el cual es una media de variabilidad en el muestreo.

Tabla 36 Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para el alto de los explantes de *Epicattleya* con intervalos de confianza del 95.0%

<i>NIVEL</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MEDIA GLOBAL	36	2.4625			
DOSIS					
0.2	12	2.425	0.154461	2.10997	2.74003
0.35	12	2.525	0.154461	2.20997	2.84003
0.5	12	2.4	0.154461	2.12247	2.75253
BLOQUE					
CHLORELLA	12	2.4	0.154461	2.10164	2.73169
ARTHROSPIRA	12	2.3	0.154461	1.94331	2.57336
CHLORELLA + ARTHROSPIRA	12	2.7125	0.154461	2.39747	3.02753

Tabla 37 Pruebas de múltiple para el alto de los explantes de *Epicattleya* por Extractos

<i>Extractos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Arthrospira	12	2.25833	0.154461	A
Chlorella	12	2.42	0.154461	AB
Chlorella + Arthrospira	12	2.7125	0.154461	B

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Chlorella - Arthrospira		0.158333	0.445513
Chlorella - Chlorella + Arthrospira		-0.295833	0.445513
Arthrospira - Chlorella + Arthrospira	*	-0.454167	0.445513

* Indica una diferencia significativa

Como anteriormente explicado las pruebas de múltiple de rangos para el crecimiento de latitud de los explantes de *Epicattleya* por Extractos como en la tabla 39, determinan cual media son significativamente diferentes de otras. La

mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias.

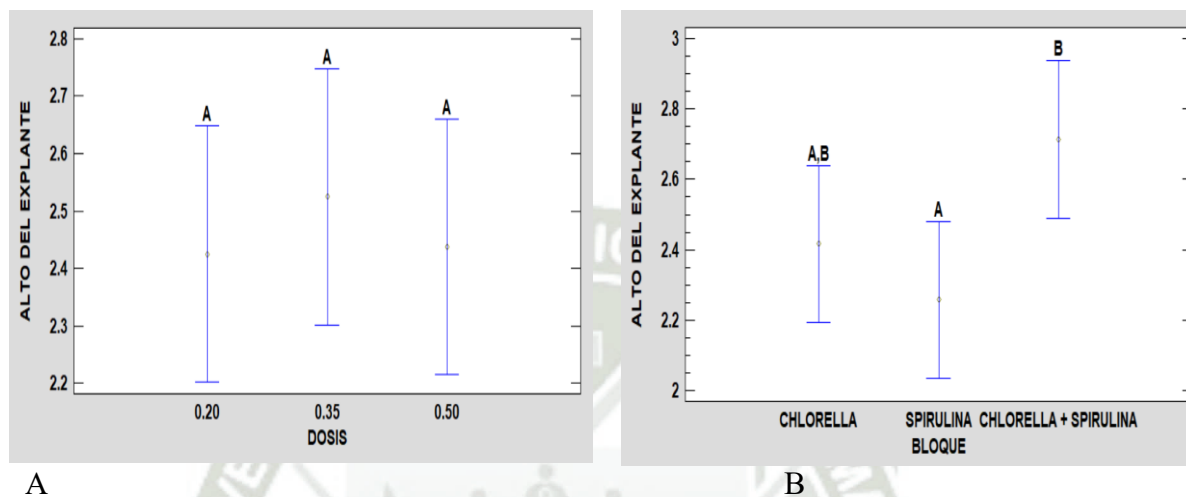


Figura 31 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

Tabla ANOVA para la $\frac{1}{2}$ de concentración de medio MS, en el alto de los explantos de *Epicattleya* y evaluar si algun factor tiene efecto significativo. Con un nivel del 95%. Presenta los resultados del análisis de varianza realizado para evaluar el efecto de la dosis de los extractos microalgales sobre el crecimiento en el alto de los explantes del híbrido *Epicattleya*.

Tabla 38 Análisis de varianza para el alto de los explantes de *Epicattleya* con la $\frac{1}{2}$ Concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	0.400556	2	0.200278	0.9	0.4168
B: EXTRACTOS	0.187222	2	0.093611	0.42	0.6602
RESIDUOS	6.89528	31	0.222428		

TOTAL
(CORREGIDO)

7.48306

35

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual

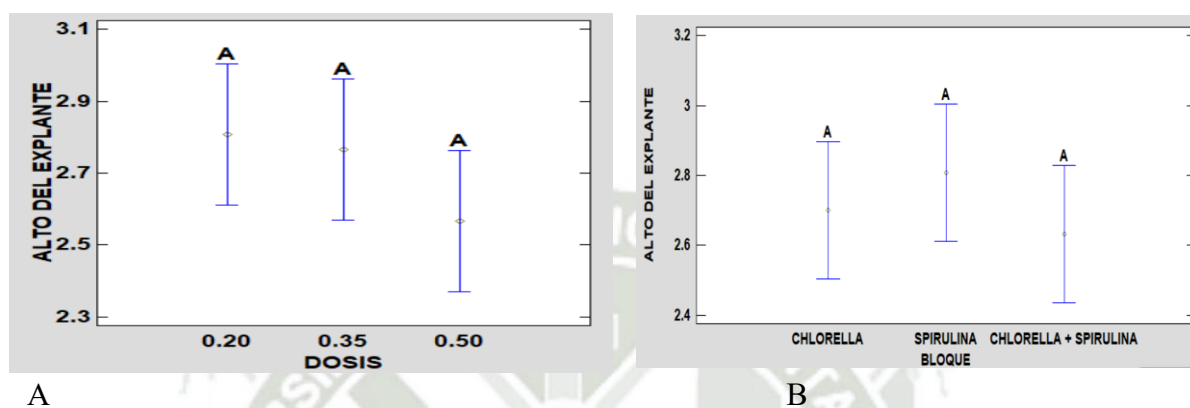


Figura 32 Gráficos de Medias y 95.0% de Fisher LSD para el alto de los explantes de *Epicattleya* con la ½ Concentración de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

La tabla 40 muestra que el factor dosis como el tipo de extractos no presentan efectos estadísticamente significativos menor a ($p < 0.05$), el cual indica que las variaciones en la concentración como los distintos extractos, no impactan en el alto de los explantes del híbrido *Epicattleya*.

3.3.6 Ancho de los explantes

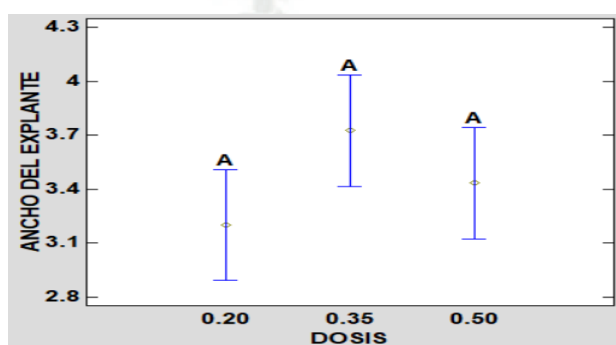
Tabla ANOVA para evaluar si los factores tienen un efecto significativo con el ancho de los explantes de *Epicattleya* usando el medio completo de MS

Tabla 39 Análisis de varianza para el ancho de los explantes de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS

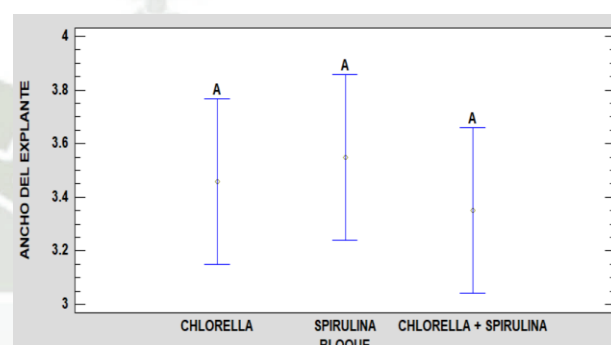
Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	1.66056	2	0.830278	1.51	0.2375

B: EXTRACTOS	0.240556	2	0.120278	0.22	0.8052
RESIDUOS	17.0886	31	0.551246		
TOTAL (CORREGIDO)	18.9897	35			

Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual



A



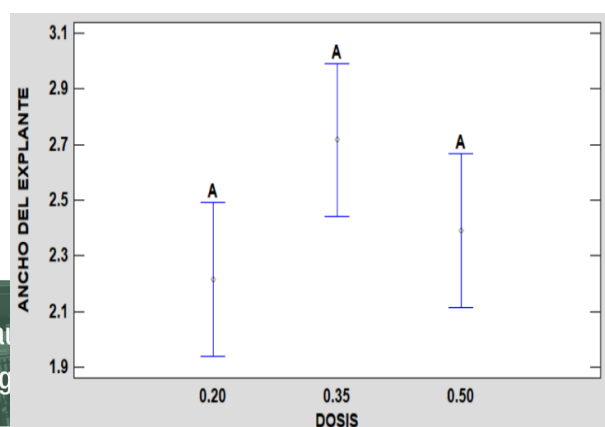
B

Figura 33 Gráficos de Medias para el ancho de los explantes de *Epicattleya* con la Concentración completa de medio MS con el factor: (A) Dosis y (B) Extractos

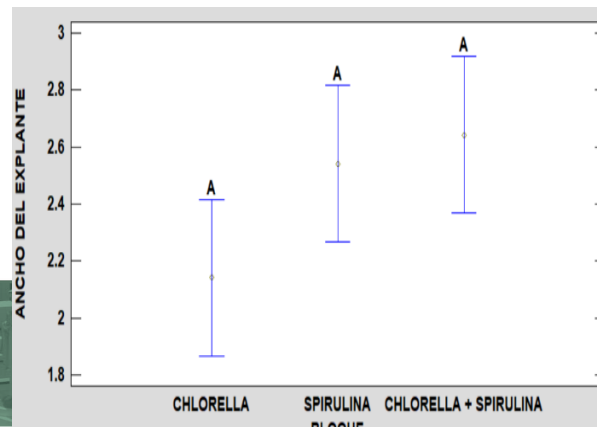
Tabla 40 Análisis de varianza para el ancho de los explantes de *Epicattleya* con la ½ Concentración de medio MS

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Cuadrado medio	Razón - F	Valor - P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: DOSIS	1.545	2	0.7725	1.78	0.1861
B: EXTRACTOS	1.68	2	0.84	1.93	0.1620
RESIDUOS	13.4825	31	0.434919		
TOTAL (CORREGIDO)	16.7075	35			

*Todas las razones – F se basan en el cuadrado medio del error residual



69



La tabla 41 y 42 reportan los resultados del análisis de ANOVA realizado para evaluar los posibles efectos de la dosis de los extractos microalgales y el tipo de extractos (*Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis*) sobre la extensión lateral del híbrido *Epicattleya*, esta puede deberse

3.3.7 Numero brotes

En la especie híbrida de *Epicattleya* se evidencio un mayor número de crecimiento de brotes por tratamientos en las diferentes concentraciones de medio como en el adicionamiento de los extractos en sus distintas concentraciones, los gráficos siguientes muestran el promedio del número de brotes realizado en los tratamientos.

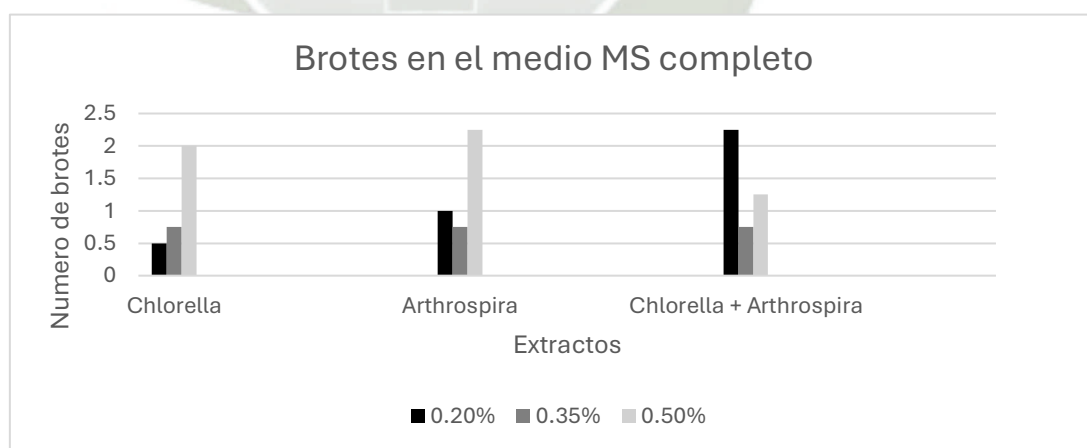
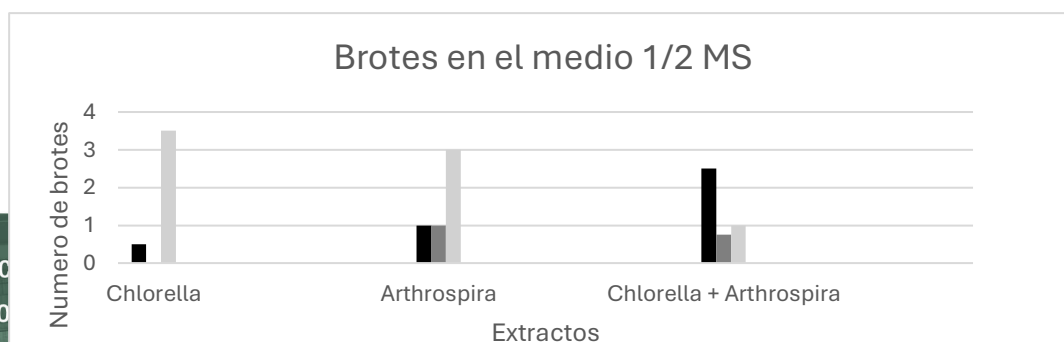


Figura 35 Promedio del número de brotes en medio MS completo en especie *Epicattleya*



Aquí se evidenció que hubo mayor crecimiento de brotes con una mayor concentración de extractos tanto en *Arthrospira* como *Chlorella*, como también la combinación de estas en menor concentración al 0.20% demuestra que también tiene un efecto positivo en el crecimiento de brotes, en el medio de MS completo. En el gráfico anterior se reportó que hubo un mayor crecimiento de brotes con una mayor concentración de extractos de *Chlorella* al 0.50%, como también la combinación de los extractos en menor concentración al 0.20% demuestra que también tiene un efecto positivo en el crecimiento de brotes, en el medio de $\frac{1}{2}$ MS.

En ambas concentraciones de medio MS se reporta que el extracto de *Chlorella vulgaris* ha tenido un efecto estimulante positivo en el crecimiento de brotes en *Epicattleya*, de manera similar al estudio realizado por Dudina et al. 2024 que evalúa el potencial de la microalga en diferentes medios de cultivo *in vitro* reportó que un crecimiento activo de brotes principales como laterales de *Staurogyne repens*, *Alternanthera reineckii roseafolia*, *Ipomoea batatas* y *Hyssopus officinalis*,

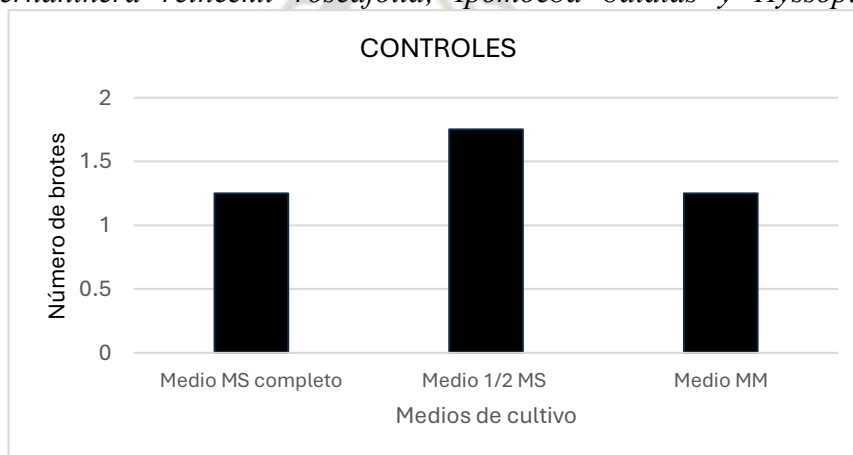


Figura 37 Promedio del número de brotes en los medios de control de la especie *Epicattleya*

demonstrando su potencial en los diferentes tipos medio de cultivo *in vitro* con el uso de esta microalga.(66)

3.3.8 Disposición de brotes

En la disposición del crecimiento de los brotes no se reportó ningún crecimiento aéreo, todos brotes tuvieron un crecimiento profundo en la especie *Epicattleya*, a pesar de que un híbrido con tendencia al crecimiento de brotes aéreos.



CONCLUSIONES

PRIMERA.

Se concluye que hubo mayor efecto del extracto microalgal de *Chlorella vulgaris* en dosis bajas reporta mejores resultados, con la dosis de 0.35 y medio ½ MS en el crecimiento del número de hojas, mayor número de raíces gruesas, en alto y ancho de los explantes. El extracto de *Arthrospira platensis* mejor respuesta en crecimiento del número y longitud de raíces en el medio ½ MS en dosis intermedia para la especie híbrida *Phalaenopsis*.

SEGUNDA.

La combinación de los extractos microalgales, ha tenido excelentes resultados en el medio con la mitad de concentración MS en crecimiento de hojas, número y grosor de raíces y alto de los explantes para la especie híbrida *Phalaenopsis*.

TERCERA.

El extracto de *Arthrospira platensis* en dosis bajas reporta tener mayor efecto en el medio a mitad de concentración de MS, afectando positivamente en el crecimiento de hojas, longitud y grosor de raíces, como estructuralmente en el alto y ancho de las plántulas y en estimulación del crecimiento de brotes. Como el extracto de *Chlorella* mejor efecto en crecimiento del número de raíces en la especie híbrida *Epicattleya*.

CUARTA.

Finalmente, el suplemento de ambos extractos en medio completo de MS reporta mejores resultados para el crecimiento de hojas, número de raíces, alto, ancho y mayor número de brotes de las plántulas en comparación de con el uso de un solo extracto.

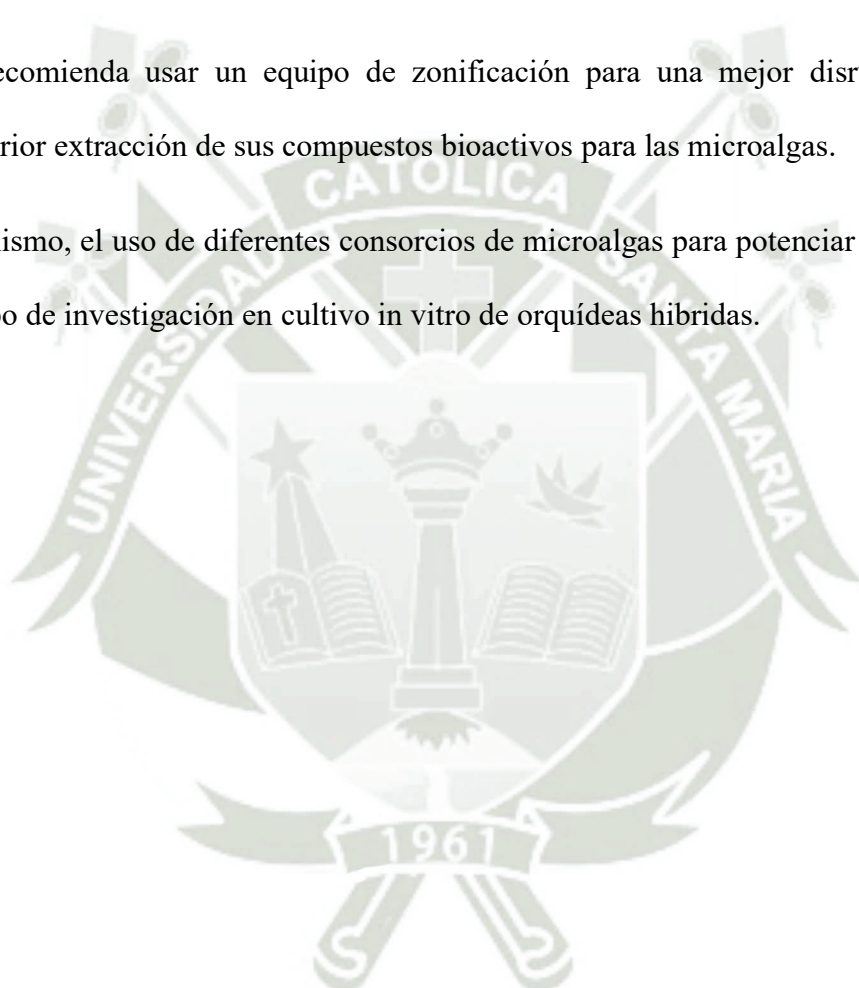
RECOMENDACIONES

Estas sugerencias están orientadas a futuras investigaciones posteriores a este estudio.

Se recomienda ampliar el uso de más explantes de los híbridos *Phalaenopsis* como el tiempo de experimentación para evaluar los cambios en condiciones *ex vitro* en la fase de aclimatación para ver la eficacia de los resultados obtenidos.

Se recomienda usar un equipo de zonificación para una mejor disrupción celular y posterior extracción de sus compuestos bioactivos para las microalgas.

Asimismo, el uso de diferentes consorcios de microalgas para potenciar y ampliar más el campo de investigación en cultivo in vitro de orquídeas híbridas.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MINAM. Guía de identificación de orquídeas con mayor demanda comercial [Internet]. Primera edición. Lima: Perú. Ministerio del Ambiente.; 2015 [citado 2024 May 11]. Disponible en: <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/142>
2. Parmar P, Kumar R, Neha Y, Srivatsan V. Microalgae as next generation plant growth additives: Functions, applications, challenges and circular bioeconomy based solutions. Front Plant Sci [Internet]. 2023 [citado 2024 May 14];14. Disponible en: [/pmc/articles/PMC10101342/](https://pmc/articles/PMC10101342/)
3. Cabellos Arroyo M del C. “Efectos de la aplicación de un bioestimulante a base de microalgas sobre la fisiología, la productividad y la calidad de los frutos en cultivos hortícolas de interés agroalimentario” [Tesis Doctoral]. [Madrid]: Universidad de Alcalá; 2023.
5. Condor Cachique JAM. Influencia de diferentes sustratos y dosis de hormonas en la propagación vegetativa de *Phragmipedium boissierianum* (Rchb. f.) Rolfe “Zapatito” en fase de vivero, Tingo María [Internet] [Tesis para optar el título de profesional de ingeniero forestal]. [Tingo María]: Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2019 [citado 2024 May 11]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14292/1550>
6. Tirado JM, Naranjo EJ, Atehortúa L. Propagación in vitro de *Phalaenopsis* (Orchidaceae) a partir de protocormos, mediante el sistema de inmersión temporal “RITA.” Rev Colomb Biotecnol [Internet]. 2005 [citado 2024 May 9];VII(1):25–31. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77670104>
7. Vallejos Torres G. Propagación masiva de orquídeas (*Cattleya* y *Phalaenopsis*) mediante un sistema de biorreactores de inmersión temporal en San Martín, Perú [Internet]. [Tarapoto]: Universidad Nacional de San Martin; 2020 [citado 2024 May 12]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11458/3731>

8. Velasco Ortega L, Beltrán Barea P. Orquídeas del Parque Natural sierra de Grazalema. Andalucía; 2008.
9. Díaz Toribio MH. Manual de Cultivo de Orquídeas. 1°. Veracruz; 2013.
10. Granados-Sánchez D, López-Ríos GF, Hernández-García MÁ, Sánchez-González A. Ecología de las plantas epífitas. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente [Internet]. 2003 [citado 2024 May 12];9(2):101–11. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62913142001>
11. Ox ki'ntab - Flor del Campo [Internet]. [citado 2024 May 13]. Disponible en: <https://orquideasoxkintab.com/textos.php?id=20110905045034>
12. Carrodegua Gonzalez A, Zuñiga Orozco A, Sánchez Calvo L. Herramientas para el mejoramiento genético de orquídeas del género Vanda. FAVE Sección Ciencias Agrarias [Internet]. 2022 Sep 20 [citado 2024 May 13];21(2):79–95. Disponible en: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/publicaciones/index.php/FAVEAgrarias/article/view/12074/16414>
13. Camarena Mayta F, Chura Chuquija J, Blas Sevillano RH. Mejoramiento genético y biotecnológico de plantas. Lima; 2014.
14. Gutiérrez M. A, Santacruz R. F, Cabrera P. JL, Rodríguez G. B. Mejoramiento genético vegetal in vitro. e-Gnosis [Internet]. 2003 [citado 2024 May 16];(1):0-undefined. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=73000104>
15. Pedro Huaman JJ, Blas Cerdan WG, Reyes Pita DB, Rodriguez Luján LF, Rosales Rodríguez SF, Ruíz Angeles JJ, et al. Genetic improvement in autogamous plants. Rebiol. 2021 Jul 12;41(1):136–53.
16. Mendieta Sanjines JM. “Inducción al enraizamiento y aclimatación de vitro plantas de orquídea (*Epidendrum quinquepartitum* Schltr.) con distintos niveles de ácido naftalenacético y diferentes sustratos” [Internet] [Tesis de grado]. [La Paz]:

- UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS ; 2013 [citado 2024 May 14].
Disponible en: <http://hdl.handle.net/123456789/4302>
17. Menchaca García RA, Sulayka F. Castelán Culebro SF. Manual de operación de la colección in vitro. Francisco Ventura E, Sanchez Morales LP, Méndez Hernández A, Flores Maquetado DM, editors. Universidad Veracruzana. Universidad Veracruzana;
18. Morales Benavent I, Barbery Knaudt R. Manual para el Cultivo In Vitro de la Orquídea *Cattleya nobilior* “Flor símbolo de Concepción” [Internet]. Santa Cruz: Universidad Veracruzana; 2011. 33–36 p. Disponible en: www.cepad.org
19. Vasco Avila CA. Evaluación del enraizamiento in vitro y aclimatación de plántulas de la orquídea *Epidendrum ibaguense*. [Internet] [Trabajo de grado]. Universidad militar nueva Granada; 2020 [citado 2024 May 17]. Disponible en: <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/35961/VascoAvilaClaretAntonio2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
20. Debergh PC, Maene LJ. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Sci Hortic*. 1981 Apr 1;14(4):335–45.
21. Cuervo Andrade JL, Gutierrez Rodríguez GA, Albarracín Bohórquez N, Sánchez Sánchez JM, Escobar Pardo OF, Flautero Murillo CL, et al. Generalidades del cultivo del *Cymbidium* [Internet]. primera. 2022 [citado 2024 May 14]. Disponible en: <https://repositorio.cun.edu.co/handle/cun/3582>
22. Balam Narváez R. Hibridación natural en orquídeas: precocidad manifiesta. Herbario CICY, Unidad de Recursos Naturales Centro de Investigación Científica de Yucatán, AC (CICY) [Internet]. 2010 Jan 28;5–6. Disponible en: http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
23. *Phalaenopsis* y sus híbridos [Internet]. [citado 2024 May 17]. Disponible en: <https://www.lacasadelasorquideas.com/phalaenopsis-y-sus-hibridos/>

24. Milicia VJ, Chiesa Á, Coviella A, Soto MS, Milicia VJ, Chiesa Á, et al. PRODUCCIÓN DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS ENTRE *Nierembergia* ericoides y *Nierembergia linariaefolia* mediante la aplicación de técnicas de rescate embrionario. *Chilean journal of agricultural & animal sciences* [Internet]. 2018 [citado 2024 May 19];34(3):234–42. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-38902018000300234&lng=es&nrm=iso&tlng=es
25. Esquivel Arias J, Campos Rojas J de D. Cultivo de orquídeas del género *Phalaenopsis* [Internet]. 1997 Jul [citado 2024 May 19]. Disponible en: <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-7132.pdf>
26. Manual de cultivo *Phalaenopsis* para maceta. American Orchid Society. Anthura unlimited in varieties; 2017.
27. Pakyong S. (PDF) Taxonomy and morphology of Orchids. 2023 Aug 8 [citado 2025 Jan 14];3:50–6. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/373658254_Taxonomy_and_morphology_of_Orchids
28. Cortez Azenon M de J. Manual práctico de producción y manejo de orquídeas *Phalaenopsis* [Internet]. El Salvador; 2013 [citado 2024 May 14]. Disponible en: <https://fliphtml5.com/ndlha/qpur/basic>
29. iNaturalistEc [Internet]. 2019 [citado 2024 May 14]. Orquídeas Mariposa (género *Phalaenopsis*). Disponible en: <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/140477-Phalaenopsis>
30. NaturaLista Colombia [Internet]. [citado 2024 May 19]. *Epidendrum pseudopseudendrum*. Disponible en: <https://colombia.inaturalist.org/taxa/636018-Epidendrum-pseudopseudendrum>

31. Ortiz-Moreno ML, Macgayver M, Morales B. Boletín de la Asociación Orquideológica de la Orinoquía [Internet]. Bonilla Morales MM, Aguirre Morales; Adriana Carolina, Iñiguez Salinas FA, editors. Vol. 2. Villavicencio; 2018. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/329223116>
32. iNaturalist [Internet]. [citado 2024 May 19]. Cattleya violacea. Disponible en: <https://www.inaturalist.org/taxa/574759-Cattleya-violacea>
33. NCBI [Internet]. [citado 2024 May 19]. Cattleya violacea. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/123127/>
34. du Jardin P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. Sci Hortic. 2015 Nov 30;196:3–14.
35. Salazar Rodríguez Y, Alfonso Martínez J, Gallardo Cruz A. Los bioestimulantes. Una alternativa para el desarrollo agroecológico cubano | Salazar Rodríguez | Revista ECOVIDA. Revista científica sobre la diversidad biológica y su gestión integrada [Internet]. 2021 [citado 2024 May 15];11(3). Disponible en: <https://revistaecovida.upr.edu.cu/index.php/ecovida/article/view/239/html>
36. Saenz M. entufinca.com. 2021 [citado 2024 May 15]. Bioestimulantes. Tipos, ventajas y desventajas de uso. - entufinca.com. Disponible en: https://entufinca.com/bioestimulantes-tipos-ventajas-y-desventajas-de-uso/#Tipos_o_lista_de_bioestimulantes_agricolas_de_uso_frecuente
37. Valdiviezo Pérez FA. “Extracto de microalgas en la producción y calidad de ají escabeche (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*)” [Tesis de Grado]. [Lima]: Universidad Nacional Agraria La Molina Facultad de Agronomía; 2023.
38. Ronga D, Biazzi E, Parati K, Carminati D, Carminati E, Tava A. Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. Agronomy 2019, Vol 9, Page

- 192 [Internet]. 2019 Apr 15 [citado 2024 May 15];9(4):192. Disponible en:
<https://www.mdpi.com/2073-4395/9/4/192/htm>
39. Gómez Luna LM. Cultivo y aplicación de las microalgas *Dunaliella salina* y *Chlorella vulgaris* en Cuba [Internet] [Tesis doctoral]. [Coruña]: Universidade da Coruña; 1997 [citado 2024 May 15]. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=20581>
40. *Chlorella vulgaris*: Sistemática, Etimología, Hábitat, Cultivo... [Internet]. [citado 2025 Jan 7]. Disponible en: <https://antropocene.it/es/2023/01/31/chlorella-vulgaris-3/>
41. NCBI - BIREME [Internet]. [citado 2024 May 15]. *Chlorella vulgaris*. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/3077/>
42. Hernández Rodríguez J, Orlandis González N. *Spirulina platensis* en el tratamiento de la obesidad y de algunas de sus consecuencias. *Revista Cubana de Medicina General Integral* [Internet]. 2021 [citado 2024 May 15];37(3):1–22. Disponible en:
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=110070>
43. Guevara M, Freitas L, Lodeiros C, VEGA BOA. Crecimiento y composición bioquímica de *Arthrospira platensis* (División Cyanophyta) cultivada a diferentes salinidades y fuentes de nitrógeno. *Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela* [Internet]. 2014 [citado 2024 May 15];53(1):3–13. Disponible en:
<http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2009>
44. Fernández Honores AM, Alvítez Izquierdo E, Rodríguez Rodríguez EF. Taxonomía e importancia de “spirulina” *Arthrospira jenneri* (Cyanophyceae: Oscillatoriaceae). *Arnaldoa*. 2019 Sep;26(3):1091–104.
45. Vonshak A. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, cell-biology and biotechnology. 2002.

46. Ramakrishnan R. Anticancer properties of blue green algae spirulina platensis – A review. 2013;
47. NCBI - BIREME [Internet]. [citado 2024 May 15]. *Arthrospira platensis*. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/118562/>
48. Lujan M. Microalgas como nueva fuente de bioestimulantes agrícolas. Revista digital en acuicultura: LAQUA24 [Internet]. 2020 Aug 24 [citado 2024 May 15]; Disponible en: <https://aquahoy.com/microalgas-fuente-bioestimulantes-agricolas/>
49. Santner A, Calderon-Villalobos LIA, Estelle M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chemical Biology* 2009 5:5 [Internet]. 2009 Apr 17 [citado 2024 May 15];5(5):301–7. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nchembio.165>
50. Fahad S, Hussain S, Matloob A, Khan FA, Khaliq A, Saud S, et al. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant Growth Regul.* 2015 Mar 24;75(2):391–404.
51. Han X, Zeng H, Bartocci P, Fantozzi F, Yan Y. Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. *Fermentation* 2018, Vol 4, Page 25 [Internet]. 2018 Apr 9 [citado 2024 May 15];4(2):25. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2311-5637/4/2/25/htm>
52. PhytoTech Labs Inc. PhytoTechLabs. 2022 [citado 2025 Sep 2]. p. 1–6 Safety Data Sheet, Murashige & Skoog Basal Medium w/ Vitamins. Disponible en: <https://phytotechlab.com/mwdownloads/download/link/id/5053>
53. Ahlawat J, Sehrawat AR, Chaudhary R, Pandey D. *Ascophyllum nodosum*: a Potential Substitute for Synthetic Hormones for Tissue Culture Propagation of *Capparis decidua* (Forsk) Edgew. *Regen Eng Transl Med* [Internet]. 2022;8(1):145–51. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40883-021-00215-0>

54. Abd El-Sadek ME, Ahmed EA. Novel application of spirulina platensis extract as an alternative to the expensive plant growth regulators on Capparis Cartilaginea (DECNE.). Al-Azhar Journal of Pharmaceutical Sciences [Internet]. 2022 Sep 1 [citado 2025 May 18];66(2):29–41. Disponible en: https://ajps.journals.ekb.eg/article_268248.html
55. Rady MM, Elrys AS, Selem E, Mohsen AAA, Arnaout SMAI, El-Sappah AH, et al. Spirulina platensis extract improves the production and defenses of the common bean grown in a heavy metals-contaminated saline soil. Journal of Environmental Sciences [Internet]. 2023 Jul 1 [citado 2025 May 15];129:240–57. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1001074222004491>
56. Hamouda RA, Shehawy MA, Mohy El Din SM, Albalwe FM, Albalawi HMR, Hussein MH. Protective role of Spirulina platensis liquid extract against salinity stress effects on Triticum aestivum L. Green Processing and Synthesis [Internet]. 2022 Jan 1 [citado 2025 May 20];11(1):648–58. Disponible en: <https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/gps-2022-0065/html>
57. Dmytryk A, Samoraj M, Moustakas K, Witek-Krowiak A, Chojnacka K. Bioactive fatty acids and compounds from Spirulina (Arthrospira) platensis: Potential as biostimulants for plant growth. Sustain Chem Pharm [Internet]. 2022 Dec 1 [citado 2025 May 18];30:100899. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352554122003035#sec2>
58. Adi EBM, Priadi D, Deswina P, Agustini NWS. The Growth of Pak Choy (Brassica rapa L.) on the microalgae (Spirulina platensis) biomass-based nutrient solution. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2023 Sep 1 [citado 2025 Jan 13];1230(1):012205. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/1230/1/012205>

59. Adi EBM, Priadi D, Deswina P, Agustini NWS. The Growth of Pak Choy (*Brassica rapa* L.) on the microalgae (*Spirulina platensis*) biomass-based nutrient solution. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2023 Sep 1 [citado 2024 Dec 18];1230(1):012205. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/1230/1/012205>
60. Vildanova GI, Allaguvatova RZ, Kunsbaeva DF, Sukhanova N V., Gaysina LA. Application of *Chlorella vulgaris* Beijerinck as a Biostimulant for Growing Cucumber Seedlings in Hydroponics. BioTech 2023, Vol 12, Page 42 [Internet]. 2023 May 22 [citado 2025 May 20];12(2):42. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2673-6284/12/2/42/htm>
61. Pereira NS, Ferreira BRR, de Carvalho EM, Damiani CR. Application of *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyceae) as supplement and/or an alternative medium for the in vitro cultivation of *Schomburgkia crispa* (Orchidaceae). J Appl Phycol. 2018 Aug 19;30(4):2347–58.
62. Puglisi I, La Bella E, Rovetto EI, Stevanato P, Fascella G, Baglieri A. Morphobiometric and biochemical responses in lettuce seedlings treated by different application methods of *Chlorella vulgaris* extract: foliar spray or root drench? J Appl Phycol [Internet]. 2022 Apr 1 [citado 2024 Dec 18];34(2):889–901. Disponible en: <https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2178/article/10.1007/s10811-021-02671-1>
63. Corbellini JR, Ribas LLF, de Maia FR, Corrêa D de O, Nosedá MD, Suzuki RM, et al. Effect of microalgae *Messastrum gracile* and *Chlorella vulgaris* on the in vitro propagation of orchid *Cattleya labiata*. JAPco [Internet]. 2020 Dec 1 [citado 2024 May 9];32(6):4013–27. Disponible en: <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2020JAPco..32.4013C/abstract>

64. Zhang Z, Xu M, Fan Y, Zhang L, Wang H. Using microalgae to reduce the use of conventional fertilizers in hydroponics and soil-based cultivation. *Science of The Total Environment*. 2024 Feb 20;912:169424.
65. Shedeed ZA, Gheda S, Elsanadily S, Alharbi K, Osman MEH. *Spirulina platensis* Biofertilization for Enhancing Growth, Photosynthetic Capacity and Yield of *Lupinus luteus*. *Agriculture* 2022, Vol 12, Page 781 [Internet]. 2022 May 29 [citado 2025 May 21];12(6):781. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/6/781/htm>
66. Chaouch R, Kthiri Z, Soufi S, Ben Jabeur M, Bettaieb T. Assessing the biostimulant effect of micro-algae and thyme essential oil during in-vitro and ex-vitro rooting of strawberry. *South African Journal of Botany* [Internet]. 2023 Nov 1 [citado 2025 May 21];162:120–8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629923005239>
67. Dudina IA, Kalashnikova EA, Kirakosyan RN. Chlorella as the source of biologically active compounds for in vitro plant propagation. *BIO Web Conf* [Internet]. 2024 Jan 3 [citado 2024 Dec 18];82:02005. Disponible en: https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/abs/2024/01/bioconf_msnbas2024_02005/bioconf_msnbas2024_02005.html