Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Agronomía

Eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental La Argelia.

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Elvis Rene Sarango Correa

DIRECTOR:

Ing. Angel Rolando Robles Carrión PhD.

Loja – Ecuador

2022

Certificación del trabajo de integración curricular

Loja, 15 de agosto de 2022

Ing. Angel Rolando Robles Carrión PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental La Argelia,** de la autoría del estudiante **Elvis Rene Sarango Correa**, con **cédula de identidad** Nro.**1105645269,** una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.

Ing. Angel Rolando Robles Carrión PhD.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Elvis Rene Sarango Correa**, declaro ser autor del presente trabajo de integración curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional-Biblioteca Virtual.

Firma:

Cédula de identidad: 1105645269

Fecha: 9 de noviembre del 2022

Correo electrónico: elvis.sarango@unl.edu.ec

Teléfono: 0981257735

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular.

Yo **Elvis Rene Sarango Correa,** declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la quinta Experimental La Argelia**, como requisito para optar por el título de **Ingeniero Agrónomo** autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del trabajo de integración curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 09 días del mes de noviembre de dos mil veintidós.

Firma:

Autor: Elvis Rene Sarango Correa

Cédula: 1105645269

Dirección: Avenida Reinaldo Espinoza y calle Pedro Vicente Maldonado, Cantón Loja – Loja

Correo electrónico: elvis.sarango@unl.edu.ec

Celular: 0981257735

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director del Trabajo de Integración Curricular

Ing. Angel Rolando Robles Carrión, PhD.

Dedicatoria

El único modo de hacer un gran trabajo es amar lo que haces - Steve Jobs

La presente tesis está dedicada primero a Dios, por cada detalle y momento durante la realización de mi trabajo investigativo, por cada día en el que me permitió despertar no solo con vida, sino que también me permitió continuar con salud, fuerzas, empeño y haber llegado hasta el final.

Dedico con todo mi corazón la presente tesis a mi madre Benigna Correa, pues sin ella no lo habría logrado, gracias por haberme apoyado en todo momento, por tus consejos, tus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien. Por eso te doy mi trabajo en ofrenda al gran amor que me has brindado, te amo madre mía.

A mi hermano Eugenio Sarango, el amigo incondicional que me enseñó a trabajar por mis sueños y quien tuvo fe en mí, por tener siempre una palabra de ánimo, una lección que enseñarme. Aunque hoy no pueda abrazarlo físicamente, lo abrazo con el alma.

A mi padre Nicolás Sarango y mis hermanos Yadira, Cecilia, Lijia y Rubén por ser mis fieles compañeros a lo largo de la vida, por ser los impulsores de mis sueños, por estar siempre en mi vida no sólo aportando buenas cosas, sino también por su gran apoyo en esta fuerte etapa de mi vida.

Elvis Rene Sarango Correa

Agradecimiento

Agradezco a la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, en especial a la Carrera de Agronomía por brindarme el espacio para desarrollar mi formación como profesional permitiéndome alcanzar esta meta.

Agradezco a la Ing. Yadira Collahuazo técnica docente del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, por su valiosa ayuda y orientación en el trabajo realizado. A los Ings. Franco Guillen y Yomara Fernández por haberme brindado un espacio para el desarrollo de mi trabajo de tesis, alcanzando así esta meta tan deseada.

Muy especialmente al director de tesis Dr. Angel Robles por su paciencia y dedicación desde los primeros pasos en la elaboración del presente trabajo, ha sido de mucha importancia toda la ayuda que me ha brindado, he sabido contar con un director de tesis que, a más de ser un docente, es un gran amigo.

Mi mayor gratitud por su tiempo, comprensión, liderazgo y paciencia a la Dra Marina Mazón, gracias infinitas por sus conocimientos y experiencias que fueron de vital importancia al presente trabajo, por cada una de sus sugerencias y aportes valiosos para mejorar la redacción de investigación.

A todos mis compañeros y amigos que han sido un aporte importante para realizar el presente trabajo, me han apoyado y motivado, gracias por la ayuda desinteresada que me han brindado, sé que siempre puedo tener una mano amiga con la cual contar.

Elvis Rene Sarango Correa

Índice de contenidos

Portada……..i
Certificación del trabajo de integración curricular.....ii
Autoría iii
Carta de autorización. iv
Dedicatoria.....v
Agradecimiento vi
Índice de contenidos.....vii
Índice de tablas.....ix
Índice de figuras ix
Índice de anexos x
1. Título……..1
2. Resumen 2
2.1. Abstract 3
3. Introducción 4
4. Marco teórico 6
4.1. Coliflor 6
4.1.1. Origen de la coliflor 6
4.1.2. Taxonomía 6
4.1.3. Fenología.....6
4.1.4. Descripción morfológica.....7
4.1.5. Condiciones climáticas y de suelo 7
4.1.6. Requerimientos nutricionales de la coliflor 8
4.2. Bioestimulante.....8
4.2.1. Beneficios de los bioestimulantes 10
4.2.2. ¿Cuándo usar bioestimulantes?.....11
4.2.3. ¿Qué se espera del uso de bioestimulantes? 11
4.2.4. Clasificación de bioestimulantes.....11
4.3. Microalgas 12
4.4. Microalgas como bioestimulantes 12
4.4.1. *Chlorella* spp.....13
4.4.2. Reproducción 14
4.4.3. Estudios sobre el uso de Bioestimulante a base de microalgas 14
5. Metodología 16

5.1. Área de estudio 16
5.2. Condiciones climáticas 16
5.3. Tipo y alcance de investigación 17
5.4. Diseño Experimental 17
5.4.1. Modelo matemático del diseño 17
5.4.2. Tratamientos de estudio 18
5.6. Metodología por objetivos 19
5.6.1. Metodología para el primer objetivo 19
5.6.2. Metodología para el segundo objetivo 20
5.6.3. Análisis estadístico 22
6. Resultados 23
6.1. Resultado para el primer objetivo 23
6.1.1. Número de días en la emergencia de coliflor 23
6.2. Resultado para el segundo objetivo 24
6.2.1. Aparición de hojas cotiledonales 24
6.2.2. Longitud de la raíz 24
6.2.3. Altura de la planta 26
6.2.4. Número de hojas 27
6.2.5. Área foliar 27
6.2.6. Diámetro del tallo 28
7. Discusión 30
7.2. Discusión para el segundo objetivo 30
7.2.1. Parámetros de crecimiento 30
8. Conclusiones 33
9. Recomendaciones 34
10. Bibliografía 35
11. Anexos 43

Índice de tablas

Tabla 1. Bioestimulantes de venta libre en Ecuador. 8
Tabla 2. Delineamiento del diseño experimental para la evaluación de *Chlorella* spp como bioestimulante de coliflor en la Quinta Experimental La Argelia, Loja. 17
Tabla 3. Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento de campo con la aplicación del bioestimulante de *Chlorella* spp. 18
Tabla 4. Días a la emergencia en el cultivo de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis)* en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm). 23
Tabla 5. Días a la aparición de 2 hojas cotiledonales totalmente desplegadas en el cultivo de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150 ppm)..... 24
Tabla 6. Longitud de la raíz del cultivo de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150 ppm)..... 24
Tabla 7. Altura de las plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en cada evaluación (desde los 18 a los 74 días después de la siembra DDS) en función de la aplicación de diferentes diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm). 26
Tabla 8. Número de hojas en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm)..... 27
Tabla 9. Área foliar en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en cada evaluación (desde los 38 a los 78 días después de la siembra DDS) en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm)..... 28
Tabla 10. Diámetro del tallo en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en cada evaluación (desde los 40 a los 80 días después de la siembra DDS) en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm). 29

Índice de figuras

Figura 1. Microorganismos representados por filo y estructura celular: (A) *Arthrospira platensis*, (B) *Chlorella vulgaris*, (C) *Porphyridium purpureum* y (D) *Phaeodactylum tricornutum*. 12
Figura 2. Ubicación del estudio en el cantón Loja, Ciudad de Loja, sector "La Argelia" 16
Figura 3. Diseño experimental implementado en campo con la aplicación del bioestimulante de *Chlorella* spp. 19

Índice de anexos

Anexo 1, figura 1. Desarrollo de la investigación. **A)** Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador (CBUNL). **B)** Invernadero de la Quinta Experimental Docente "La Argelia". 43
Anexo 1, figura 2. A) Colección de cultivos de microalgas del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja. **B)** Toma de muestra de *Chlorella* spp., del biorreactor madre 43
Anexo 1, figura 3. A) Muestra entre el cubreobjetos y la superficie de la cuadrícula de la cámara de Neubauer en ángulo de 45°. **B)** Conteo de células de *Chlorella* spp. 44
Anexo 1, figura 4. A) Dilución de concentraciones de *Chlorella* spp. **B)** Soluciones de *Chlorella* (células/mL) (D1 = $2x10^2$; D2 = $2x10^4$ y D3 = $2x10^6$.....44
Anexo 1, figura 5. A) Semillas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) sumergidas en 15 tratamientos. **B)** Siembra de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) en semillero y en fundas de vivero.....45
Anexo 1, figura 6. A) Emergencia de las plántulas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). **B)** Aparición de hojas cotiledonales totalmente desplegadas en plántulas de coliflor (Brassica oleracea var. botrytis).....45
Anexo 1, figura 7. Longitud de la raíz en plántulas de coliflor (Brassica oleracea var. botrytis) 45
Anexo 1, figura 8. A) Medición de la altura en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). **B)** Número de hojas de las plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).....46
Anexo 1, figura 9. Área foliar en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). **B)** Diámetro del tallo en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).....46
Anexo 2, tabla 1. Resultados de la Prueba de Kruskal Wallis para la variable días a la emergencia (p valor significativo < 0,05) 47
Anexo 2, tabla 2. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable hojas cotiledonales (p valor significativo < 0,05).....47
Anexo 2, tabla 3. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable longitud de la raíz (p valor significativo < 0,05).....48
Anexo 2, tabla 4. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable altura de la planta desde los 18 a los 74 días después de la siembra DDS (p valor significativo < 0,05).....48
Anexo 2, tabla 5. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable número de hojas (p valor significativo < 0,05).....49
Anexo 2, tabla 6. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable área foliar (p valor significativo < 0,05).....49
Anexo 2, tabla 7. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable diámetro de tallo (p valor significativo < 0,05).....50
Anexo 3. Certificación de traducción del abstract……..……51

Eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental La Argelia.

2. Resumen

El uso de bioestimulantes, aporta beneficios a los cultivos cuando se los aplica a nivel de la semilla, superficie de la hoja y directamente al suelo. El uso de microalgas como bioestimulante en la agricultura es un tema de creciente importancia en los últimos años, por lo que es necesario conocer sus efectos y aplicaciones en la agricultura. Por ello se evaluó la eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de la coliflor, bajo condiciones controladas. Se establecieron 15 tratamientos producto de la combinación de 3 dosis *Chlorella* como bioestimulante ($2x10^2$; $2x10^4$ y $2x10^6$) y tiempo de inmersión de la semilla (0,50; 1,50 y 2,50 horas) más 2 dosis de control, control negativo (agua destilada estéril), positivo (NewGibb 150 ppm). Se contabilizó los días a la emergencia, aparición de hojas cotiledonales durante cada día, la longitud de la raíz se midió a los 22 DDS (días después de la siembra). Para las variables restantes (altura de la planta, número de hojas, área foliar y diámetro de tallo) se marcó un inicio y un final, la primera toma de datos se dió a 18 DDS y se finalizó cuando las plantas tuvieron 80 DDS. Para conocer el efecto de la dosis de *Chlorella* sobre el tiempo de inmersión se realizaron análisis tipo ANOVA (paramétricos y no paramétricos) y pruebas de Tukey al 95 % de confianza con el Sofware Sigmaplot 14.0 e InfoStat. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la interacción entre la dosis de *Chlorella* y tiempo de inmersión, respondió únicamente a dosis de *Chlorella* de manera independiente. En conclusión, *Chlorella* spp. ha mostrado que promueve el crecimiento de la planta similar a un bioestimulante químico (NewGibb). El estudio abre la posibilidad de utilizar microalgas del género *Chlorella* spp., como una fuente de bioestimulante en la agricultura orgánica.

Palabras clave: Bioestimulante, microalgas, *Chlorella* spp, crecimiento, coliflor.

2.1. Abstract

Applied at the seed level, on the leaf surface, and directly to the soil, biostimulants provide benefits to crops. Microalgae are becoming increasingly important as biostimulants in agriculture in recent years, thua it is crucial to understand how they work in the agriculture field. Therefore, the efficiency of the biostimulant *Chlorella* spp. on cauliflower growth was evaluated under controlled conditions. Fifteen treatments were established as a result of the combination of 3 doses of *Chlorella* as biostimulant (2x102; 2x104 and 2x106) and seed immersion time (0.50; 1.50 and 2.50 hours) plus 2 control doses, negative control (sterile distilled water), positive (NewGibb 150 ppm). Days to emergence, appearance of cotyledonal leaves each day, and root length were measured at 22 DDS (days after planting). For the remaining variables (plant height, number of leaves, leaf area and stem diameter) a beginning and an end were marked, the first data collection was at 18 DDS and was finished when the plants had 80 DDS. To determine the effect of *Chlorella* dose on immersion time, ANOVA analyses (parametric and non-parametric) and Tukey tests at 95 % confidence were carried out with Sigmaplot 14.0 and InfoStat software. No statistically significant differences were found in the interaction between *Chlorella* dose and immersion time; it responded only to *Chlorella* dose independently. In conclusion, *Chlorella* spp. has been shown to promote plant growth similar to a chemical biostimulant (NewGibb). The study opens the possibility of using microalgae of the genus *Chlorella* spp. as a source of biostimulant in organic agriculture.

Key words: Biostimulant, microalgae, *Chlorella* spp, growth, cauliflower.

3. Introducción

Ecuador es considerado un importante país agrícola, cada región es altamente productiva, la región interandina se caracteriza por presentar condiciones edafoclimáticas favorables para el desarrollo de muchos cultivos, especialmente de ciclo corto como la coliflor (Guamán, 2013).

Actualmente, los consumidores de coliflor se han vuelto más exigentes, con la necesidad de producirlas con alta calidad y en cantidad suficiente para mantener su suministro durante todo el año (Chen *et al*., 2019). La gran demanda de la hortaliza ha llevado a los productores a desarrollar nuevas técnicas de cultivo, con el objetivo de aumentar la productividad y reducir el costo de producción, así como una mayor calidad del producto y un menor precio. El uso de nuevas técnicas de cultivo, además de hacer a los productores más competitivos, promueve la generación de ingresos y beneficios no sólo a la seguridad y soberanía alimentaria sino también a la conservación de la biodiversidad y a la mitigación y adaptación al cambio climático (Devi *et al*., 2018; Sofian y Susila, 2018; Tello *et al*., 2018).

Desde hace mucho tiempo, el manejo se ha perfeccionado cada vez más, de acuerdo con los requerimientos del cultivo y, sumado a las tecnologías disponibles hoy en el campo, tenemos varias opciones exitosas que maximizan la productividad final (Bhardwaj *et al*., 2018; Neima *et al*., 2020; Sharma *et al*., 2022). En este contexto, una de estas alternativas es el uso de bioestimulantes, que pueden aportar beneficios a los cultivos cuando se los aplica a nivel de la semilla, superficie de la hoja y directamente al suelo; presentan características como: la capacidad de acelerar el crecimiento de las plantas, mejorar sus defensas ante la presencia de microorganismos fitopatógenos, ayudar a la absorción y eficiencia de los nutrientes, favorecer el equilibrio hormonal de las plantas, y estimular el desarrollo del sistema radicular y el poder germinativo de las semillas, así como ayudar en la degradación de las sustancias de reserva de las semillas, en la diferenciación, división y elongación celular (Parađiković *et al*., 2019; Bulgari *et al*., 2019; Drobek *et al*., 2019; Monteiro *et al*., 2022), lo que permite que el cultivo exprese un aumento en la producción (Shams y Farag, 2019; Abdel *et al*., 2020).

Los bioestimulantes se utilizan ampliamente en diversas hortalizas en la agricultura, principalmente tomate, lechuga, coliflor, entre otros, debido a su influencia positiva en el aumento y la calidad de la cosecha (Shahrajabian *et al*., 2021a; Shahrajabian *et al*., 2021b). En la actualidad existe la tendencia en utilizar productos biológicos de hongos, bacterias y de microorganismos fotoautótrofos (microalgas) para ser utilizados como bioestimulantes en

cultivos de interés económico para la región (Pylak *et al*., 2019; Ronga *et al*., 2019; Al-Juthery *et al*., 2020). En base a lo expuesto, en los últimos años se ha intensificado el uso de microalgas como bioestimulante en diversos cultivos, además reducen la necesidad de fertilizantes o bioestimulantes químicos convencionales.

Las microalgas son de gran interés debido a que diversos estudios han mostrado que pueden ayudar en la fijación del nitrógeno, mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo, y producir sustancias que promueven el desarrollo de la planta y el control de enfermedades, razón por la cual, las microalgas del género *Chlorella* son las más estudiadas y representan una alternativa viable para la producción de bioestimulantes y generar beneficios no solo para la producción agrícola sino también para el medio ambiente (Bhalamurugan *et al*., 2018; Ragaza *et al*., 2020; Yadav *et al*., 2020).

Por todo lo expuesto, se propone conocer cuál es la eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia", dado que en la actualidad nuestro país posee pocos estudios sobre el uso de *Chlorella* spp como bioestimulador de semillas. Con dicha investigación se aportarán nuevas alternativas de producción sostenible a bajo costo para así evitar el uso indiscriminado de químicos, además permitirá aportar con conocimientos y recomendaciones que serán útiles para la actividad agrícola y la producción de mayor calidad. Con estos antecedentes se realizó la investigación con el objetivo de

3.1. Objetivo General

- Evaluar la eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia".

3.2. Objetivos Específicos

- Identificar la dosis adecuada del bioestimulante de *Chlorella* spp. en la emergencia de plántulas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia".
- Determinar los parámetros de crecimiento en el cultivo de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) con la adición del bioestimulante de *Chlorella* spp., bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia".

4. Marco teórico

4.1. Coliflor

4.1.1. Origen de la coliflor

Diversos estudios concluyen que la coliflor se originó en las regiones del Mediterráneo oriental, siendo cultivada en un principio con fines terapéuticos. Se centró en la península Itálica y debido a sus intensas relaciones comerciales en la época romana, tuvo como resultado su expansión entre distintas zonas del Mediterráneo. Llega a Francia e Inglaterra en el siglo XVI, en el siglo XVII se generaliza por toda Europa y a finales del siglo XVIII llega a España. Finalmente, en el siglo XIX, las potencias coloniales europeas expandieron el cultivo por todo el mundo (Guamán, 2013; Pineda, 2020).

4.1.2. Taxonomía

Según Pinto (2013), la coliflor pertenece a la siguiente clasificación:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Brassicales

Familia: Brassicaceae

Género: *Brassica*

Especie: *Brassica oleracea*

4.1.3. Fenología

Londoño (2001) detalla la fenología de la coliflor de la siguiente manera:

Etapa 1- Plántula o fase vegetativa: cuando las plantas tienen 3-10 hojas verdaderas, lo cual ocurre entre la fecha de siembra y los 30-45 días después del trasplante.

Etapa 2- Establecimiento o de desarrollo: posterior a la décima hoja, hasta el inicio del cierre del cogollo.

Etapa 3- Cierre de cogollo: desde el cierre de cogollo, hasta que la pella alcance una pulgada de diámetro.

Etapa 4- Formación de cabeza o cabeceo: desde que la cabeza o pella tenga una pulgada de diámetro hasta la cosecha; aproximadamente 12 semanas.

4.1.4. Descripción morfológica

Su nombre científico es *Brassica oleracea* var. *botrytis* L, familia de las Brassicaceae, es cultivada por su parte comestible como la flor o inflorescencia la cual brota en medio de sus hojas, esta inflorescencia se la denomina cabeza o pella, se reproduce por semillas durante todo el año (Tucto, 2018; Pineda 2020).

Posee una raíz pivotante y raíces laterales relativamente pequeñas, provistas de numerosos pelos radicales (Jaramillo y Díaz, 2006). Su tallo es cilíndrico, carnoso y grueso, muy pequeño (10 cm), sin ramificación y al alcanzar su altura definida comienza la formación de hojas (Jaramillo y Díaz, 2006; Pinto, 2013), sus hojas son grandes, oblongas (de unos 40 a 50 cm de largo y 20 cm de ancho), sésiles, enteras, onduladas, elípticas y muy erguidas de color verde o también pueden tener tonalidades más oscuras e incluso azuladas en dependencia de la variedad con la que se trabaje (Japón, 1983). El conjunto de inflorescencias se denomina pella, la cual se encuentra rodeada y protegida por las hojas, su tamaño puede variar y alcanzar diámetros de 15-30 cm, y pesos entre 300-1.200 gramos, depende de las prácticas de manejo como fertilización, época y densidad de siembra (Jaramillo y Díaz, 2006).

4.1.5. Condiciones climáticas y de suelo

La coliflor se adapta mejor en climas fríos y húmedos y no tolera tanto calor, debido a que sus pellas no se desarrollan con normalidad. La temperatura óptima para su ciclo de cultivo oscila entre 15,5 a 21,5 °C, en cuanto a germinación la temperatura mínima es de 5 °C, aunque su óptimo es de 26-27°C; a mayor temperatura del suelo, menor es el tiempo de emergencia de las plántulas. El suelo para la siembra de coliflor debe ser profundo, de textura media (francoarenoso), con alto contenido de materia orgánica y capacidad de retención de humedad; de buen drenaje, pues es una planta muy sensible al encharcamiento (Pinto, 2013; Guamán, 2013; Jaramillo y Díaz, 2006).

4.1.6. Requerimientos nutricionales de la coliflor

Es un cultivo muy exigente en cuanto a fertilidad del suelo, a la nutrición nitrogenada, pues el nitrógeno es el nutriente que más demanda el cultivo. Durante la etapa de formación de la pella, la coliflor debe recibir suficiente fósforo y potasio. Cuando la cantidad de fósforo supera a la de nitrógeno en las fases iniciales del desarrollo de las plantas, tienden a desarrollarse prematuras y forman muy temprano las pellas, que resultan pequeñas y poco compactas (Cuadrado, 2015).

Zuquilanda (2003) menciona que la fertilización representa la práctica agronómica más importante del proceso productivo agrícola, el objetivo de la fertilización es efectuar los aportes necesarios para que el suelo proporcione a las plantas una alimentación suficiente y equilibrada.

4.2. Bioestimulante

Según Traon *et al*. (2014), un bioestimulante de plantas es cualquier sustancia o microorganismo, en la forma en que se suministra al usuario, aplicado a las plantas, semillas o el entorno de las raíces con la intención de para estimular los procesos naturales de las plantas que benefician la eficiencia en el uso de nutrientes y/o la tolerancia al estrés abiótico, independientemente de su contenido de nutrientes, o cualquier combinación de tales sustancias y/o microorganismos destinados a este uso. En la Tabla 1 se mencionan algunos de los bioestimulantes comerciales.

Tabla 1. Bioestimulantes de venta libre en Ecuador.

Nombre	Descripción
	YaraVita Biotrac™ es un bioestimulante líquido para aplicación foliar a base de una mezcla de nutrientes y compuestos extraídos del alga *Ascophyllum nodosum*. Está diseñado para aliviar condiciones de estrés abiótico (como por ejemplo el frío y sequía) ayuda a las plantas a estimular la floración y fructificación, a más de aumentar la cantidad y calidad de la cosecha (Yara, 2022).

	Humisil contiene ácidos húmicos 18 %, N-P-K 4,02 % y sílica activa 1,5 %. Promueve la germinación de las plantas y la vitalidad temprana. Ayuda a las plantas a superar situaciones de estrés biótico o abiótico (Greentech, 2022).
ALGA-Q	Alga-Q contiene extracto de algas marinas *Ascophyllum nodosum*, *Sargassum*, naturales, atoxicas, no son dañinas, amigables con el medio ambiente y son ricas en elementos menores, hormonas de crecimiento naturales, aminoácidos y carbohidratos (LignoQuim, 2022).
AMINOCROP SL®	Aminocrop Sl fórmula líquida de aminoácidos derivados de proteínas naturales, se pueden diluir fácilmente con agua. Corrige la desnutrición, mejora el desarrollo de los frutos, ayuda a las plantas a tolerar el estrés ambiental y previene la muerte prematura (LignoQuim, 2022).
KYNETER®	Es producto orgánico derivado de extracto de algas marinas (A*scophyllum nodossum*) rico en Citoquininas, regulador de crecimiento de plantas, no son dañinas, amigable con el medio ambiente y son ricas en elementos mayores y menores, aminoácidos y carbohidratos (LignoQuim, 2022).
Turbo Mix20®	Proporciona tres elementos menores esenciales para una agricultura eficiente: zinc, boro y calcio. Todos estos elementos están energizados con aminoácidos naturales de fuentes vegetales (LignoQuim, 2022).

	Ecuafloración es un fertilizante líquido de rápida asimilación de origen vegetal formulado a base de un extracto de algas GA 142, para aplicación foliar y en fertirriego (Ecuaplantas, 2022).
	NewGibb 10% es un fitoregulador de crecimiento de acción hormonal que estimula y regula el desarrollo de las plantas. El la germinación de semillas el ácido giberélico ejerce su influencia de dos maneras, primero aumentando el potencial de crecimiento del embrión y segundo induciendo enzimas hidrolíticas (Ogawa *et al*., 2003). La germinación de semillas, la elongación del tallo, el desarrollo de tejido meristmético y la diferenciación de órganos florales dependen en gran medida del sistema y mecanismo de señalización del ácido giberélico. Se requiere de ácido giberélico para romper la latencia de la semilla que conduce a su germinación (Kucera *et al*., 2005; Gupta y Chakrabarty, 2013)

4.2.1. Beneficios de los bioestimulantes

Gómez *et al*. (2021) mencionan que algunos de los beneficios de los bioestimulantes incluyen:

- Estimulación del metabolismo de las plantas;
- Aumento de la capacidad de resistencia o tolerancia de las plantas a factores de estrés abiótico;

- Optimización de la asimilación y uso eficiente de los nutrimentos ofrecidos a través de fuentes de fertilizantes;
- Mejoramiento del rendimiento y la calidad de los cultivos;
- Estimulación de la actividad biológica del suelo.

4.2.2. ¿Cuándo usar bioestimulantes?

La selección del momento idóneo para la aplicación de los bioestimulantes debe basarse en la fenología del cultivo y en el proceso que se desea optimizar, por tanto, se puede hacer bioestimulación desde las etapas tempranas del cultivo, con lo cual se busca mejorar el desarrollo radical y la adecuada formación de la parte aérea, así como diferenciación floral, cuaje de frutos y adecuado desarrollo de las mismas (Tarazona, 2020; Povero *et al*., 2016).

4.2.3. ¿Qué se espera del uso de bioestimulantes?

En dependencia del momento de aplicación del bioestimulante aplicado y del objetivo buscado, se debe tener claro el resultado que se puede evaluar. Si se realiza bioestimulación de raíces, se espera la obtención de una mayor tasa radical, mejor absorción de agua, nutrientes y un favorable efecto sobre el desarrollo de la planta. Por otro lado, si se aplica bioestimulante para cuaje de flores y frutos se espera mayor cantidad de fruta con mejor calidad (Tarazona, 2020; Povero *et al*., 2016).

4.2.4. Clasificación de bioestimulantes

Los bioestimulantes se han estudiado y utilizado desde la década de 1950. Desde entonces, la clasificación de estos productos y microorganismos ha cambiado. En la actualidad se reconocen siete categorías de ellos que se mencionan a continuación (Burgari *et al*., 2019):

1. Ácidos húmicos y fúlvicos
2. Hidrolizados de proteínas y compuestos nitrogenados
3. Quitosano y otros biopolímeros
4. Compuestos inorgánicos
5. Hongos benéficos
6. Bacterias benéficas
7. Extractos de algas y plantas superiores

4.3. Microalgas

Las algas son organismos unicelulares o multicelulares de diferentes tamaños y formas, que comprenden grupos de microalgas (microscópicas) y macroalgas/algas marinas (macroscópicas). Además, las microalgas pueden organizarse en colonias y filamentos macroscópicamente visibles (Konur, 2020; Fleurence, 2021). Las microalgas son un grupo heterogéneo más pequeño, con organismos de tamaños que van desde 1 µm hasta 1 mm, como *Chlorella*, que vive en agua dulce o en el suelo y tiene células esféricas con un diámetro que oscila entre 2 µm y 10 µm (Klamczynska y Mooney, 2017).

Las algas no comparten un ancestro común y se consideran un grupo polifilético cuyo término propio de algas no tiene valor taxonómico. Sin embargo, las algas presentan características diferentes en cuanto a su morfología y fisiología. Por lo general, las microalgas se pueden encontrar como procariotas y eucariotas (Figura 1) y se clasifican en grupos secundarios según los pigmentos (Eltanahy y Torky, 2021 ; Figueiroa-Torres *et al*., 2021 ; Fleurence, 2021).

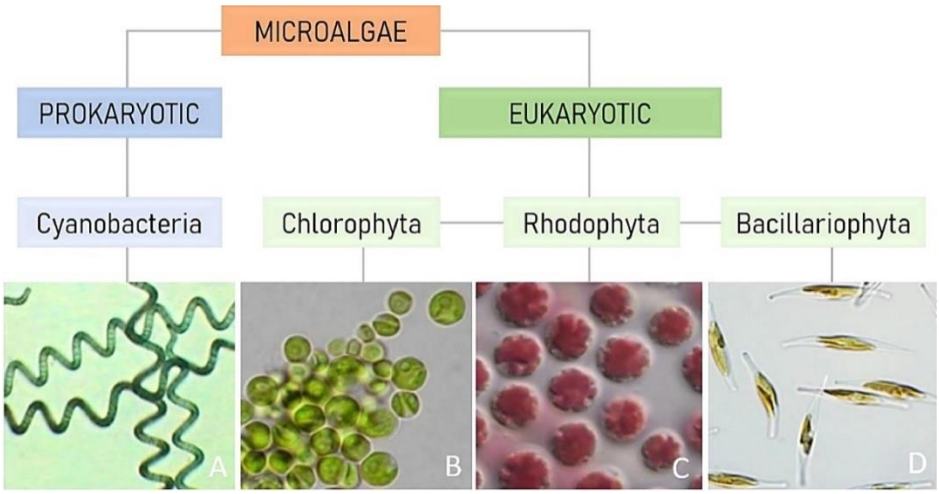


Figura 1. Microorganismos representados por filo y estructura celular: (A) *Arthrospira platensis*, (B) *Chlorella vulgaris*, (C) *Porphyridium purpureum* y (D) *Phaeodactylum tricornutum*.

4.4. Microalgas como bioestimulantes

El uso de algas como bioestimulante en la agricultura es un tema de creciente importancia en los últimos años, por lo que es necesario conocer sus efectos y aplicaciones en la agricultura, ya que las algas aportan múltiples beneficios. En estas aplicaciones, los extractos de algas se utilizan como acondicionadores del suelo para mejorar la productividad de los cultivos. (Bulgari *et al*., 2019).

Las microalgas, utilizadas como bioestimulantes y fertilizantes, reducen los impactos ambientales, de salud y las convierten en una opción más rentable para los productores de cultivos como tomates, lechugas, frijoles, pepinos, y pimientos (Basillo, 2021).

En la agricultura las algas se han utilizado como biofertilizantes y bioestimulantes, con el fin de aumentar el crecimiento y el rendimiento de las plantas (Ronga *et al*., 2019). Existen 9.000 especies de macroalgas que se dividen en tres grandes grupos en función de su pigmentación, *Phaeophyta*, *Rhodophyta* y *Chlorophyta* o las algas pardas, rojas y verdes, respectivamente (Hamed, 2018).

Las algas rojas se han utilizado como bioestimulante para el crecimiento vegetal, entre ellas se menciona a continuación: *Corralina mediterránea Areschoug*, *Janiarubens* (L.) J.V. Lamouroux, *Pterocladia pinnata* (Hudson) Papenfuss y algas verdes como *Cladophora dalmatica* Kützing, *Enteromorpha intestinalis* (L.) Nees, *Ulva lactuca* L. *Isochrysis* spp., *Chaetoceros* spp., *Chlorella* spp., *Arthrospira* spp. y *Dunaliella* spp, son especies de microalgas que se encuentran disponibles comercialmente, han sido utilizadas en la cadena de alimentos para ecosistemas marinos, industria farmacéutica, consumo humano y agricultura (Pérez *et al*., 2020).

4.4.1. *Chlorella* spp.

Las especies de algas verdes que tienen forma esférica y no presentan flagelos generalmente se consideran pertenecientes al género *Chlorella*, que son en su mayoría organismos de agua dulce o terrestres. Los estudios filogenéticos han demostrado que este género es polifilético y pertenece a diferentes clases. Sin embargo, hasta ahora, solo se han estudiado cepas de agua dulce o terrestres (Darienko *et al*., 2019).

Las microalgas verdes del género *Chlorella* spp son organismos que pertenecen al orden Chlorelalles, clase Trebouxiophyceae, filo Chlorophyta, fueron descritas inicialmente por Martinus W. Beyerinck, en 1890, como un género que contenía cuatro especies (Abed *et al*., 2018). Su clasificación taxonómica es todavía un proceso en curso (Masojidek y Torzillo, 2014).

Chlorella ha sido estudiada y empleada en varias aplicaciones prácticas en agricultura y biotecnología, *Chlorella* también se utiliza como alimento rico en proteínas para la oxidación de aguas residuales (Kessler, 1982).

4.4.2. Reproducción

La reproducción es de forma asexual con la formación de autosporas, la división celular se lleva a cabo durante la noche y el volumen celular en el día, depende de las intensidades de luz y a las temperaturas a las cuales *Chlorella* esté expuesta. Debido a varias de sus capacidades en desarrollo y nutrición, *Chlorella* presenta la capacidad de crecer en presencia y ausencia de luz (Richmond, 1986; Amavizca, 2014), no se ha observado reproducción sexual en las microalgas de este género (Coronado-Reyes *et al*., 2020).

4.4.3. Estudios sobre el uso de Bioestimulante a base de microalgas

Se han realizado evaluaciones de *Chlorella* como bioestimulante. Cargua *et al*. (2019) evaluaron la eficacia de bioestimulantes sobre el crecimiento inicial de plántulas de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) Los bioestimulantes probados fueron aminoácidos, carbohidratos, extracto de *Chlorella*, extracto de *Ascophyllum nodosum*, ácidos húmicos y fúlvicos, fitohormonas y un tratamiento control. Los resultados mostraron diferencias significativas ($p<0,05$) en longitud de raíces, área foliar y peso seco de las plántulas a los 21 DDE (Días después de la emergencia) donde los bioestimulantes a base de fitohormonas, aminoácidos y extracto de algas *Chlorella* mostraron los mayores promedios comparados con el testigo.

Becerra y Sánchez (2019) evaluaron el efecto de *Chlorella* spp. en germinación y producción de zanahoria variedad Chantenayy en sustrato-suelo del lote A1-Usme-Uan, suelo rural de Bogotá, tipo franco-arcilloso (Entisol), con deficiencias de nitrógeno y carbono orgánico. Se definieron los tratamientos: T0 – testigo; T1 - fertilización química, T2 y T3 con aplicación microalgal en volúmenes de 44 y 88 mL. El porcentaje de germinación del T0 fue de 32 %, en el T2 de 73,8 % y los tratamientos restantes presentaron germinaciones superiores al 60 % (sin diferencias significativas entre ellos). Para la variable longitud total, el tratamiento T2 presentó diferencias estadísticas significativas, cuya longitud total promedió 48,19 cm, con respecto al T0 que registró 15,87 cm. Los resultados permitieron evidenciar el potencial de las microalgas como bioestimulantes en zanahoria, en un sustrato deficiente en nutrientes.

Gitau *et al*. (2021) investigaron los efectos promotores del crecimiento de las plantas de tres cepas seleccionadas de microalgas verdes eucariotas. Se investigaron los efectos bioestimuladores de dos especies de *Chlorella* y una cepa de *Chlamydomonas reinhardtii* en una planta modelo de *Medicago truncatula* cultivada en condiciones de invernadero controladas. Las plantas se cultivaron en macetas que contenían una mezcla de vermiculita y tierra (1:3) con capas de arcilla en el fondo. La aplicación de células de algas vivas cuando se

utilizó el método de empapado del suelo aumentó significativamente la longitud de los brotes, el tamaño de las hojas, el peso fresco, el número de flores y el contenido de pigmento de las plantas. Para la mayoría de los parámetros analizados, los efectos del tratamiento demostraron ser específicos para las cepas de algas aplicadas. En general, la aplicación de *Chlorella* dio lugar a plantas más robustas con mayor biomasa fresca, hojas más grandes y más flores/vainas en comparación con las muestras de control y tratadas con *Chlamydomonas* que recibieron idénticos nutrientes totales.

Martini *et al*. (2021) investigaron la capacidad estimulante sobre raíces de maíz de dos especies de algas verdes, *Chlamydomonas reinhardtii* y *Chlorella sorokiniana*. Los resultados obtenidos demuestran que tanto las células de *C. reinhardtii* como las de *C. sorokiniana* promovieron el desarrollo del sistema radicular del maíz en comparación con el control negativo no tratado. Cuando estos bioestimulantes derivados de microalgas se aplicaron en plantas cultivadas en condiciones de estrés como la deficiencia de nitrógeno, se midió un mejor desarrollo del sistema radicular en el caso de las plantas tratadas con biomasa de *C. sorokiniana*. Por lo tanto, el cultivo de microalgas para la producción de bioestimulantes puede considerarse como un proceso de base biológica que proporciona soluciones para mejorar la resiliencia de las plantas frente a condiciones de estrés.

Se han realizado evaluaciones de la aplicación de algas en diferentes cultivos. Por ejemplo, Mazuela *et al*. (2012) evaluaron el producto Fartum® (bioestimulante comercial a base de algas marinas) en tomate cherry, se tomó en cuenta el fertirriego, producción y calidad de un cultivo. Se compraron dos pruebas, uno con plantas francas y otro con plantas injertadas. Como resultado se encontró que el uso del producto mejoró el rendimiento de tomate cherry en plantas francas. No se observaron diferencias estadísticas significativas al aplicar el bioestimulante en plantas injertadas. Esto sugiere que el uso de productos naturales en base a algas marinas tiene un efecto similar al injerto (Mazuela *et al*., 2012).

En otro estudio se evaluó el efecto de una mezcla de tres bioestimulantes a base de aminoácidos, algas y ácido fúlvico en aplicación foliar en berenjena. Hubo diferencias estadísticamente significativas en el rendimiento total de las variables, el rendimiento comercial y el número de días a floración. El mejor tratamiento fue el que estaba basado en el uso de bioestimulantes a base de algas y mostró un mejor comportamiento tanto en las variables de rendimiento como en la relación costo-beneficio (Granados, 2015).

5. Metodología

5.1. Área de estudio

La investigación se desarrolló en el cantón y provincia de Loja, en el invernadero de la Quinta Experimental La Argelia de la Universidad Nacional de Loja (Figura 2). Geográficamente se ubica en las siguientes coordenadas:

Latitud: 4° 2'17.52"S

Longitud: 79°12'0.55"W

Altitud: 2135 m s. n. m.

.

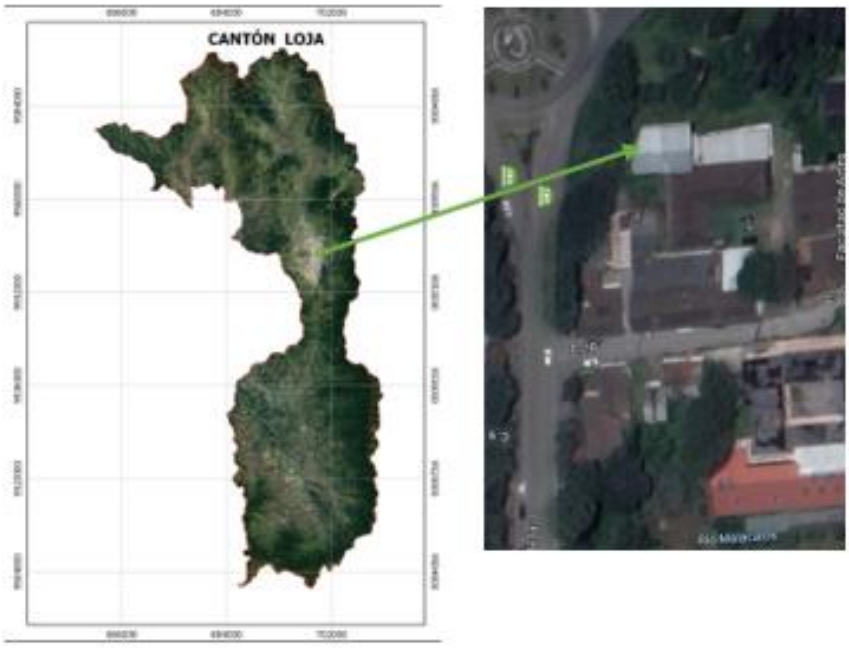


Figura 2. Ubicación del estudio, Cantón Loja, Quinta Experimental Docente "La Argelia".

5.2. Condiciones climáticas

El plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón Loja (2020) menciona que las condiciones meteorológicas que presenta el sitio de investigación son:

- Precipitación media anual de 900 mm.
- Temperatura media anual de 18 °C.
- Humedad media de 78%

5.3. Tipo y alcance de investigación

La investigación realizada fue de tipo experimental, se recopiló información cuantificable para ser utilizada en los análisis estadísticos de la población. El alcance de la investigación fue exploratorio, ya que se examinó un tema poco estudiado en la región Sur del Ecuador, como es el estudio del uso de *Chlorella* spp como bioestimulante.

5.4. Diseño Experimental

Se utilizó un Diseño completamente al Azar (DCA), en arreglo bifactorial (5 X 3) (Tabla 2).

Tabla 2. Delineamiento del diseño experimental para la evaluación de *Chlorella* spp como bioestimulante de coliflor en la Quinta Experimental La Argelia, Loja.

Diseño	Cantidad
Número de tratamientos:	**15**
Número de repeticiones por tratamiento:	6
Número total de plantas:	90
Unidad experimental:	1 planta de coliflor
Factores:	
Factor 1	**Factor 2**
Chlorella (células/mL) **+ Controles**	**Tiempo de inmersión de la semilla**
D0 = Control negativo (Agua destilada)	T1= 0,50 horas T2= 1,5 horas T3= 2,5 horas
D1 = 2 X 10^2	
D2 = 2 X 10^4	
D3 = 2 X 10^6	
D4 = Control positivo (NewGibb) 150 ppm	

5.4.1. Modelo matemático del diseño

$$Y_{ijK} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \in_{ijK}$$

Y_{ijk} = Respuesta de la k-ésima repetición en el i-ésimo nivel del factor A y j-ésimo nivel del factor B

μ = Media general de las observaciones

A_i = Efecto que produce el i-ésimo nivel del factor A

B_j = Efecto que produce el j-ésimo nivel del factor B

AB= Efecto de la interacción entre el nivel i de A con el nivel j de B

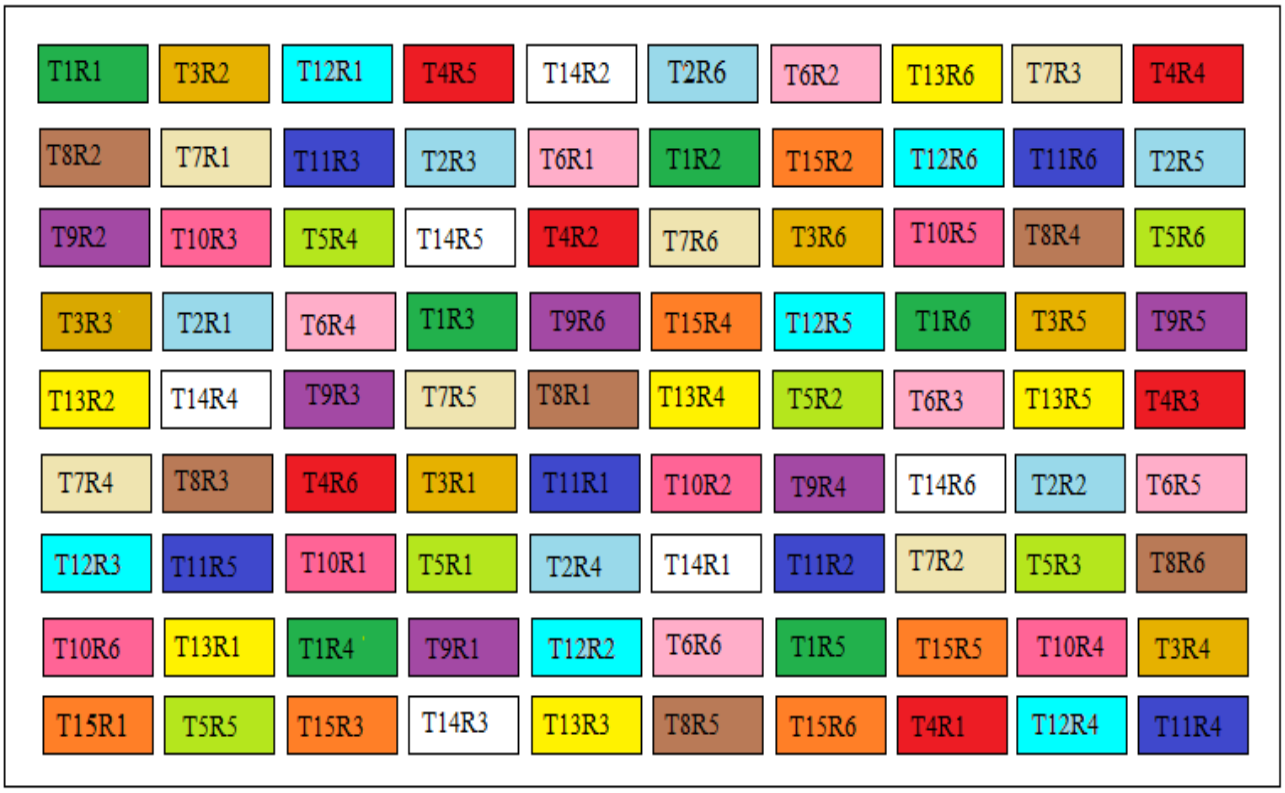
∈ijK= Error asociado a la ijk-esima observación, que se supone normal independientemente distribuida con esperanza 0 y varianza σ2

5.4.2. Tratamientos de estudio

Los tratamientos fueron 15, producto de la combinación de los factores en estudio, donde el primer factor fue **dosis de *Chlorella* como bioestimulante** (células/mL) (D1 = $2x10^2$; D2 = $2x10^4$ y D3 = $2x10^6$). El segundo factor fue **tiempo de inmersión de la semilla** (t1 = 0,50 horas; t2 = 1,50 horas y t3 = 2,50 horas). Resulta oportuno recalcar que se adicionaron 2 dosis de control: control negativo D0 = Agua destilada estéril, y control positivo D4 = bioestimulante sintético (NewGibb). Finalmente, los tratamientos resultantes fueron 15 con seis repeticiones que se detallan en la tabla 3, y posterior a ello se esquematiza el diseño experimental empleado en campo (figura 3).

Tabla 3. Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento de campo con la aplicación del bioestimulante de *Chlorella* spp.

No	Símbolo	Descripción	Tiempo de inmersión de la semilla
1	D0t1	Agua destilada estéril	0,5 horas
2	D0t2	Agua destilada estéril	1,5 horas
3	D0t3	Agua destilada estéril	2,5 horas
4	D1t1	$2x10^2$	0,5 horas
5	D1t2	$2x10^2$	1,5 horas
6	D1t3	$2x10^2$	2,5 horas
7	D2t1	$2x10^4$	0,5 horas
8	D2t2	$2x10^4$	1,5 horas
9	D2t3	$2x10^4$	2,5 horas
10	D3t1	$2x10^6$	0,5 horas
11	D3t2	$2x10^6$	1,5 horas
12	D3t3	$2x10^6$	2,5 horas
13	D4t1	NewGibb	0,5 horas
14	D4t2	NewGibb	1,5 horas
15	D4t3	NewGibb	2,5 horas



5.5. Metodología General

Figura 3. Diseño experimental implementado en campo con la aplicación del bioestimulante de *Chlorella* spp.

La investigación abarcó el período comprendido de abril-agosto del 2022, y se desarrolló en dos fases: la primera en el Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador (CBUNL), y la segunda en el invernadero de la Quinta Experimental docente "La Argelia" (Anexo1, figura 1).

5.6. Metodología por objetivos

5.6.1. Metodología para el primer objetivo

Identificar la dosis adecuada del bioestimulante de *Chlorella* spp. en la emergencia de plántulas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia".

Chlorella spp. se obtuvo de la Colección de cultivos de microalgas del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, como primer paso se realizó el conteo de *Chlorella* spp en cámara de Neubauer, para lo cual se tomó una muestra del biorreactor, se agitó y se tomaron 50 ml de la misma junto con 100 ml de agua destilada, se tuvo un factor de dilución de 0,5(Anexo 1, figura 2). Se colocó el cubreobjetos sobre la cuadrícula de la cámara

de Neubauer, se insertó la punta de la pipeta en la ranura ubicada entre el cubreobjetos y la superficie de la cuadrícula en ángulo de 45° y se dejó reposar durante 3 minutos. Seguidamente se observó al microscopio óptico y contabilizaron todas las células presentes en los 4 cuadrantes señalados como A,B,C, D y se hizo un promedio (Anexo 1, figura 3). Seguidamente se calculó la concentración celular de acuerdo con la fórmula: C= (N) x (10^4) x FD, donde: C= células/ml, N= promedio de células contadas en un cuadrante y FD= factor de dilución. Finalmente se diluyeron las concentraciones de *Chlorella* spp mediante la siguiente fórmula: C1V1 = C2V2, donde C1 = concentración de la solución concentradas (solución madre o inicial), V1 = volumen necesario de la solución concentrada, C2 = concentración de la solución diluida (solución final), V2 = volumen final de la solución diluida (Anexo 1, figura 4).

Después de inoculadas las semillas en los tratamientos se sembraron en un semillero plástico (las que se utilizaron para medir la variable longitud de raíz) y en fundas de vivero (las que se utilizaron para medir las variables restantes) con capacidad de 3 kg de sustrato, en una proporción 2:1:1 (turba-suelo agrícola-arena) esterilizado en vapor seco, a temperatura 200 °C por 4 h (Anexo 1, figura 5). Todas las unidades experimentales se regaron con agua destilada después de la siembra hasta el final de la fase de experimentación. Para establecer la mejor dosis del bioestimulante de *Chlorella* spp. y cumplir con el primer objetivo se evaluó la siguiente variable en toda la población (90 plántulas):

Días a la emergencia

Se contabilizó por observación directa las plántulas emergidas en cada uno de los tratamientos. Las observaciones se hicieron diariamente (Anexo 1, figura 6A).

5.6.2. Metodología para el segundo objetivo

Determinar los parámetros de crecimiento en el cultivo de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) con la adición del bioestimulante de *Chlorella* spp., bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia".

Las variables a evaluar fueron:

Aparición de hojas cotiledonales

Se contabilizaron los días trascurridos desde la siembra hasta la aparición de los cotiledones totalmente desplegados en cada plántula de los diferentes tratamientos. Las observaciones se realizaron diariamente (Anexo 1, figura 6B).

Longitud de la raíz

La longitud de la raíz se midió con regla graduada desde el cuello de la plántula hasta el ápice de la raíz más larga. La lectura se realizó una sola vez al inicio de experimento a los 22 días después de la siembra, cuando los tratamientos presentaron una hoja verdadera, los datos se expresaron en centímetros (cm) (Anexo 1, figura 7).

Para las variables restantes se marcó un inicio y un final, la primera toma de datos se dio a 18 días después de la siembra y se finalizó cuando las plantas tuvieron 80 días de haber sido sembradas, es importante mencionar que para evaluar dichas variables se tomaron datos a toda la población (90 plantas).

Altura de plántula

Se midió con una regla graduada desde el cuello de la planta hasta el ápice de la hoja más alta. La primera lectura se efectuó a los 18 días después de la siembra y se tomó como referencia la aparición de la primera hoja verdadera, posterior a ello se tomaron datos cada 8 días hasta el final del experimento, los datos se expresaron en centímetros (cm) (Anexo 1, figura 8A).

Número de hojas

Se contabilizó por observación directa el número de hojas verdaderas por planta. La primera lectura se tomó a los 18 días después de la siembra, posterior a ello se tomaron datos cada 8 días hasta el final del experimento (Anexo 1, figura 8B).

Área foliar

La primera lectura se tomó a los 38 días después de la siembra, se midió el largo y ancho de dos hojas (hoja 4y5) por plántula, mediante fotografías y el programa Image J se determinó el área foliar, las dos hojas en mención se midieron hasta el final del experimento. Las lecturas se efectuaron cada 10 días (Anexo 1, figura 9A).

Diámetro del Tallo

Las medidas fueron tomadas con el calibrador Vernier digital en la parte media del tallo. La primera lectura se realizó a los 40 días después de la siembra y posterior a ello se tomó datos cada 8 días hasta el final del experimento, los datos se expresaron en milímetros (mm) (Anexo 1, figura 9B).

5.6.3. Análisis estadístico

El procesamiento estadístico de los datos de las variables evaluadas se realizó con el Sofware Sigmaplot 14.0 (para variable días a la emergencia) e InfoStat (Variables parámetros de crecimiento). En todos los casos se comprobaron los supuestos de normalidad de los datos, por la prueba de Shapiro-Wilks y homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene. Se efectuó un análisis tipo ANOVA (paramétrico o no paramétrico) para saber cómo influyen los tratamientos con respecto a las variables de evaluación de la coliflor, con un nivel de confianza del 95%.

6. Resultados

6.1. Resultado para el primer objetivo

Identificar la dosis adecuada del bioestimulante de *Chlorella* spp. en la emergencia de plántulas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia".

6.1.1. Número de días en la emergencia de coliflor

En un primer momento se realizó el análisis estadístico en el cual no se cumplieron los supuestos de normalidad ni de homogeneidad de varianza, por ende, se procedió a trabajar con análisis de varianza no paramétrico (Kruskal Wallis), el cual no presentó diferencia para la interacción entre los factores: *Chlorella**tiempo de inmersión de la semilla. Sin embargo, la variable días a la emergencia respondió significativamente a *Chlorella* de manera independiente (H= 9,38; p= 0,0128) (Anexo 2, tabla 1). En la tabla 4 se visualiza que D4, D3 y D2 no presentaron diferencias significativas, por otro lado, al comparar D4 con D0, y D1 si presentaron diferencias lo que indica que con dosis $2x10^4$ y $2x10^6$ se obtiene una emergencia similar a la de la resultante de NewGibb.

Tabla 4. Días a la emergencia en el cultivo de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm).

Factor *Chlorella* + Controles	Ranks	Medias	
D0	56,5	6,78	B
D1	56,5	6,78	B
D2	42	6,33	AB
D3	39,67	6,28	AB
D4	35	6,17	A
Chlorella		*	
Tiempo		ns	
*Chorella**Tiempo de inmersión		ns	

Prueba de Kruskal Wallis. Medias con una letra diferente representan diferencias estadísticas significativas (p < 0,05). Los valores son medias de seis repeticiones, ns efecto no significativo; * efecto significativo p<0,05; **efecto significativo p<0,01; ***efecto significativo p<0,001.

6.2. Resultado para el segundo objetivo

Determinar los parámetros de crecimiento en el cultivo de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) con la adición del bioestimulante de *Chlorella* spp., bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental "La Argelia".

6.2.1. Aparición de hojas cotiledonales

Al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas para la interacción entre los factores *Chlorella**tiempo de inmersión de la semilla. La variable aparición de hojas cotiledonales respondió significativamente a *Chlorella* de manera independiente (Anexo 2, tabla 2). La tabla 5 muestra que D4 y D3 presentaron los mejores resultados referente a días de aparición de hojas cotiledonales totalmente desplegadas, existe una significancia respecto a las dosis D2, D1 y D0 las cuales presentaron hojas cotiledonales en mayor tiempo después de plantadas las semillas.

Tabla 5. Días a la aparición de 2 hojas cotiledonales totalmente desplegadas en el cultivo de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150 ppm).

Factor *Chlorella* + Controles	Medias	E.E.	
D0	10,89	0,18	C
D1	11,17	0,18	C
D2	10	0,18	B
D3	9,22	0,18	A
D4	9,06	0,18	A
Chlorella	***		
Tiempo de inmersión	ns		
*Chlorella**Tiempo de inmersión	ns		

Letras diferentes en sentido vertical representan diferencias estadísticas significativas, Tukey (p<0,05). Los valores son medias de seis repeticiones, ns efecto no significativo; * efecto significativo p<0,05; **efecto significativo p<0,01; ***efecto significativo p<0,001.

6.2.2. Longitud de la raíz

Al efectuar el análisis estadístico no se presentó diferencia significativa para la interacción entre los factores: *Chlorella**tiempo de inmersión de la semilla. La variable longitud de la raíz solo mostró diferencia significativa con *Chlorella* (Anexo 2, tabla 3). En la tabla 6 se aprecia que D0 es significativamente distinto al resto de dosis. Las dosis que tuvieron

la media significativamente mayor fueron D4, D3 y fueron significativamente mayores a D0, D1 y D2 las cuales presentaron una longitud de la raíz inferior.

Tabla 6. Longitud de la raíz (cm) en el cultivo de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150 ppm).

Factor *Chlorella* + Controles	**Medias**	**E.E.**	
D0	7,18	0,15	C
D1	7,49	0,15	BC
D2	7,98	0,15	B
D3	10,45	0,15	A
D4	10,48	0,15	A
Chlorella	***		
Tiempo de inmersión	ns		
*Chlorella**Tiempo de inmersión	ns		

Letras diferentes en sentido vertical representan diferencias estadísticas significativas, Tukey ($p<0,05$). Los valores son medias de seis repeticiones, ns efecto no significativo; * efecto significativo $p<0,05$; **efecto significativo $p<0,01$; ***efecto significativo $p<0,001$.

6.2.3. Altura de la planta

En relación con el análisis estadístico no se encontró diferencia para la interacción entre los factores: *Chlorella**tiempo de inmersión de la semilla. Al analizar *Chlorella* de manera independiente sobre la variable altura se encontraron diferencias significativas (Anexo 2, tabla 4). La tabla 7 muestra la altura de las plantas en cada evaluación realizada, en el día 18 las dosis D2, D3 y D4 fueron significativamente mayores a D1. A partir del día 26 hasta el día 74, D4 y D3 presentaron la media superior y fueron significativamente mayores a D1 y D0. En el día 74 D0 y D1 presentaron la media inferior y manifiestan diferencia estadísticamente significativa con D3 y D4 las cuales presentaron una mayor altura.

Tabla 7. Altura (cm) de las plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en cada evaluación (desde los 18 a los 74 días después de la siembra DDS) en función de la aplicación de diferentes diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm).

Factor *Chlorella* + Controles	**Día 18**	**Día 26**	**Día 34**	**Día 42**	**Día 50**	**Día 58**	**Día 66**	**Día 74**
D0	3,8 AB	6,55 BC	9,08 BC	12,57 B	16,36 B	20,58 B	24,98 B	28,7 B
D1	3,4 B	6,04 C	8,6 C	11,49 B	15,47 B	19,63 B	24,43 B	28,9 B
D2	4,1 A	7,11 AB	10,17 AB	13,45 AB	17,63 AB	22,02 AB	26,78 AB	30,9 AB
D3	4,3 A	7,89 A	11,36 A	14,95 A	18,92 A	23,55 A	28,06 A	32,2 A
D4	4,3 A	7,91 A	11,38 A	15,13 A	19,36 A	23,78 A	28,39 A	33,01 A
E.E	0,16	0,26	0,38	0,46	0,57	0,72	0,74	0,69
Chlorella		***						
Tiempo de inmersión		ns						
*Chlorella**Tiempo de inmersión		ns						

Letras diferentes en sentido vertical representan diferencias estadísticas significativas, Tukey ($p<0,05$). Los valores son medias de seis repeticiones, ns efecto no significativo; * efecto significativo $p<0,05$; **efecto significativo $p<0,01$; ***efecto significativo $p<0,001$.

6.2.4. Número de hojas

Se presentaron los valores del día 74, ya que el número de hojas del día 18 al 66 no presentaron diferencia significativa, al llevar a cabo el análisis estadístico no se encontró diferencia para la interacción entre los factores: *Chlorella**tiempo de inmersión de la semilla. *Chlorella* influyó significativamente sobre la variable número de hojas de manera independiente (Anexo 2, tabla 5). En la tabla 8 se presenta que D4 y D3 tuvieron significativamente mayor número de hojas que D0 y D1.

Tabla 8. Número de hojas en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm).

Factor *Chlorella* + Controles	**Medias**	**E.E.**	
D0	8,11	0,17	BC
D1	7,89	0,17	C
D2	8,56	0,17	AB
D3	8,94	0,17	A
D4	9,11	0,17	A
Chlorella	***		
Tiempo de inmersión	ns		
*Chlorella**Tiempo de inmersión	ns		

Letras diferentes en sentido vertical representan diferencias estadísticas significativas, Tukey (p<0,05). Los valores son medias de seis repeticiones, ns efecto no significativo; * efecto significativo p<0,05; **efecto significativo p<0,01; ***efecto significativo p<0,001.

6.2.5. Área foliar

En el análisis estadístico no se encontró diferencia para la interacción entre los factores: *Chlorella* y tiempo de inmersión de la semilla. *Chlorella* influyó significativamente sobre la variable área foliar (Anexo 2, tabla 6). En base a la tabla 9 se observa el área foliar de las plantas en cada evaluación realizada, en el día 38 D3 y D4 fueron significativamente mayores a D0 y D1, dichas diferencias se mantuvieron constantes hasta el día 68. En el día 78 la media superior de la variable área foliar se registró en D4, fue significativamente superior a D3, D2, D1 y D0 las cuales presentaron una menor área foliar.

Tabla 9. Área foliar (cm^2) en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en cada evaluación (desde los 38 a los 78 días después de la siembra DDS) en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm).

Factor *Chlorella* + Controles	Día 38	Día 48	Día 58	Día 68	Día 78
D0	7,42 B	14,90 C	34,36 C	56,6 C	90,18 C
D1	7,01 B	16,31 C	37,22 C	70,03 B	103,93 C
D2	9,85 AB	17,78 BC	50,60 B	100,27 A	133,72 B
D3	11,94 A	23,79 AB	64,67 A	101,41 A	149,83 B
D4	13,69 A	29,66 A	68,47 A	107,79 A	168,46 A
E.E	0,94	1,7	1,37	3,18	4,63
Chlorella	***				
Tiempo de inmersión	ns				
*Chlorella**Tiempo de inmersión	ns				

Letras diferentes en sentido vertical representan diferencias estadísticas significativas, Tukey ($p<0,05$). Los valores son medias de seis repeticiones, ns efecto no significativo; * efecto significativo $p<0,05$; **efecto significativo $p<0,01$; ***efecto significativo $p<0,001$.

6.2.6. Diámetro del tallo

Al ejecutar el análisis estadístico no se encontró diferencia para la interacción entre los factores: *Chlorella** tiempo de inmersión de la semilla. La variable diámetro del tallo solo mostró diferencia estadísticamente significativa con *Chlorella* (Anexo 2, tabla 7). En la tabla 9 se aprecia que al día 40 las dosis D4 y D3 tuvieron medias significativamente mayores comparadas con D1, dichas diferencias permanecieron constantes hasta el día 80 donde se observa que D4, D3 y D2 presentan las medias significativamente superiores que el resto de tratamientos D1 y D0.

Tabla 10. Diámetro del tallo (mm) en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), en cada evaluación (desde los 40 a los 80 días después de la siembra DDS) en función de la aplicación de diferentes dosis de *Chlorella* spp. D0 (Control negativo Agua destilada estéril), D1 (*Chlorella* $2x10^2$), D2 (*Chlorella* $2x10^4$), D3 (*Chlorella* $2x10^6$), D4 (Control positivo NewGibb 150ppm).

Factor *Chlorella* + Controles	**Día 40**	**Día 48**	**Día 56**	**Día 64**	**Día 72**	**Día 80**
D0	2,66 AB	3,67 B	4,97 BC	6,06 B	7,10 B	7,83 B
D1	2,51 B	3,46 B	4,66 C	6,10 B	7,08 B	7,75 B
D2	2,80 AB	3,98 AB	5,50 AB	6,63 AB	7,72 A	8,42 A
D3	3,04 A	4,28 A	5,53 AB	6,93 A	7,95 A	8,77 A
D4	2,95 A	4,39 A	5,85 A	7,14 A	8,14 A	8,96 A
E.E	0,11	0,14	0,15	0,16	0,15	0,15
Chlorella	***					
Tiempo de inmersión	ns					
*Chlorella**Tiempo de inmersión	ns					

Letras diferentes en sentido vertical representan diferencias estadísticas significativas, Tukey ($p<0,05$). Los valores son medias de seis repeticiones, ns efecto no significativo; * efecto significativo $p<0,05$; **efecto significativo $p<0,01$; ***efecto significativo $p<0,001$.

7. Discusión

7.1. Discusión para el primer objetivo

7.1.1. Número de días en la emergencia de coliflor

En el presente estudio, se utilizaron dosis de *Chlorella* spp. y NewGibb (ácido giberélico AG_3 a 150 ppm) como tratamientos de semillas previos a la siembra, para dilucidar los efectos germinativos de la inmersión de semillas en *Chlorella* spp., y AG_3 en condiciones controladas. Los resultados del estudio revelaron que las semillas tratadas en *Chlorella* spp. a una dosis de $2x10^6$, $2x10^4$ y en AG_3 a 150 ppm presentaron los mejores resultados de germinación de las plántulas de coliflor, respecto a los demás tratamientos.

Pinto (2013), en un estudio realizado en plántulas de Coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) a través de activadores ecológicos (Humus de lombriz; Trichoderma; Microorg. Eficientes), menciona que los días transcurridos desde la siembra hasta cuando se produjo la emergencia del 80% de plántulas variaron entre 7,00 días y 11,00 días, con promedio general de 9,36 días. Con base en dichos resultados se puede argumentar que la inmersión de la semilla y las dosis de *Chlorella* influyeron positivamente en la emergencia de las plántulas ya que los promedios en días del estudio realizado fueron inferiores al estudio comparado. Numerosos estudios han demostrado una amplia variedad de efectos beneficiosos de las aplicaciones de microalgas del género *Chlorella* spp., entre ellos aumentan la germinación de las semillas. (Oancea *et al*., 2013; Ronga *et al*., 2019; Das *et al*., 2019).

A su vez, López (2018) da a conocer que AG_3 usado para la germinación acelera el proceso de germinación de semillas, promueve el crecimiento en el embrión. Así mismo Belmonte (2011), en su estudio en coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) ratifica el efecto positivo de AG_3, da a conocer que el mayor número de semillas emergidas fueron registradas pasados 5 días después de la siembra, lo que representó el 90% de la totalidad de la emergencia, cuyos resultados concuerdan con los del presente estudio.

7.2. Discusión para el segundo objetivo

7.2.1. Parámetros de crecimiento

El estudio realizado en plantas de coliflor reveló que la inmersión de semillas en dosis de *Chlorella* $2x10^6$ y AG_3 a 150 ppm resultaron los más eficientes para los parámetros de crecimiento, es decir: longitud de raíz, altura de la planta, número de hojas, diámetro del tallo

y área foliar. Trabajos similares con microalgas y utilización de AG_3 dan cuenta del efecto significativo de *Chlorella* $2x10^6$ y AG_3 al compararlo con un control negativo.

Cargua *et al*. (2019), en el cultivo de frejol a los 21 días después de la siembra (DDS), mencionan que la aplicación temprana de bioestimulantes influyó significativamente sobre la longitud de raíces, el tratamiento a base de fitohormonas presentó el mejor resultado con 31,81 cm, seguido del tratamiento a base de aminoácidos y extracto de *Chlorella* con 26,00 y 26,07 cm de longitud de raíces. En general, los bioestimulantes en base a microalgas son capaces de influir en el crecimiento de las raíces fortalecen la estructura lateral de la raíz (Vernieri *et al*., 2005) y aumenta el volumen general del sistema de raíces (Mancuso *et al*., 2006). Esto da como resultado una mejora en la eficiencia del agua y los nutrientes en los sistemas radiculares, lo que conduce a un mayor crecimiento y vigor en las plantas en general (Khan *et al*., 2009; Begum *et al*., 2018). El estudio realizado por Gonzáles *et al*. (2007) en coliflor dan cuenta del efecto significativo en la utilización de AG_3, dan a conocer que en la etapa 1 (transplante a los 30 DDS) para la variable longitud de la raíz, el mayor promedio se logró con la concentración de 125 mg· L^{-1} de AG_3.

Las microalgas promueven el crecimiento de las plantas, mejoran la disponibilidad de nutrientes (Karthikeyan *et al*., 2007; Prasanna *et al*., 2015) y producen sustancias bioactivas como fitohormonas (auxinas, giberelinas, citoquininas) (Gheda *et al*., 2014; Bharti *et al*., 2019). La altura de la planta de coliflor estuvo significativamente influenciada por dosis de *Chlorella* $2x10^6$ y AG_3. Dichos resultados se asemejan a los presentados por Tello (2018) en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), durante el desarrollo vegetativo, a partir de los 21 (DDS) las plantas mostraron diferencias significativas para dicha variable, el tratamiento 2 en el cual se aplicó la mayor dosis de biofertilizante microalgal (*Chlorella* y *Scenedesmus* 4×10^6 de células microalgales por mL) mostraron mayor altura con respecto al testigo y al tratamiento 1, donde se aplicó un 50% de biofertilizante (*Chlorella* y *Scenedesmus* 2×10^6 de células microalgales por mL).

El trabajo realizado por Gómez (2021) en el cultivo de nabo (*Brassica napus* L.) indica que el tratamiento en donde se obtuvieron mejores resultados en la altura de plantas fue el tratamiento T1 (60 mg AG_3), el cual presenta un promedio de 30,25 cm en la variable altura de planta, seguido del T3 (120 mg AG_3) en donde se obtuvo un promedio de 28,14 cm en la altura, dichos resultados concuerdan con los del presente estudio donde la mayor altura en el trascurso de los días desde la primera toma de datos hasta la última fue a una dosis de AG_3 a 150 ppm.

Por otro lado, de acuerdo con los resultados presentados por Gonzáles *et al*. (2007) en el cultivo de coliflor, donde utilizaron dosis de: 0,5, 25 y 125 mg. L^{-1}, la concentración de 25 mg. L^{-1} de AG3 mostró los mayores promedios en ambas etapas, sin embargo, no encontraron diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos. Sánchez *et al*. (2020), en el cultivo de *Pisum sativum* L bajo el efecto del AG_3 diluidas en etanol, a una concentración de 10 Mm, menciona que no manifestaron respuesta alguna, presentado resultados similares al testigo. Al respecto, mencionan que el AG3 ayuda en el incremento de altura total (en concentraciones altas).

Referente al número de hojas y área foliar los resultados del presente estudio se diferencian con los de Belmonte (2011), en el cual menciona que AG_3 ejerce influencia en la cantidad de hojas producidas por cada planta de coliflor. Cuanto mayor sea la dosis de AG_3 en la planta menor número de hojas se desarrollarán, mientras tanto, en plantas en las que no se aplique AG_3, el número de hojas y área foliar será superior. A su vez Castañeda (2021) menciona que el tratamiento en donde se obtuvo el mejor resultado en la variable número de hojas fue el tratamiento T1 (60 mg AG_3), un promedio de 14 hojas por planta, seguido del tratamiento T3 (120 mg AG_3), el cual presenta un promedio de 13 hojas por planta, cuyos resultados se asemejan con otros ensayos realizados por López (2018), lo que parece indicar que AG_3 podría tener algún efecto sobre la formación de hojas por la planta

En otros trabajos con *Chlorella* en el cultivo de maíz se aplicó extractos de alga en diferentes concentraciones y con 6 g L^{-1} se obtuvo un mayor diámetro del tallo (El-Moursy *et al*., 2019). Hallazgos de Sitapara *et al*. (2011) en coliflor, Roy y Nasiruddin (2011) en col, Meena *et al*. (2018) en coliflor también han exhibido resultados similares en los parámetros de crecimiento de las plantas de coliflor.

Los resultados en el presente estudio mostraron que la inmersión de la semilla en dosis de microalgas a una concentración de $2x10^6$ y AG_3 150 ppm en plantas de coliflor, da como resultado un aumento en las variables evaluadas, lo cual aporta nuevo conocimiento para futuras investigaciones como posibles alternativas a los bioestimulantes y fertilizantes químicos porque mejoran el crecimiento, crecen rápidamente, producen una amplia gama de compuestos bioactivos y no compiten con los cultivos alimentarios por la tierra/espacio de cultivo (Abdel-Raouf, 2012; Chiaiese *et al*., 2018; Ronga *et al*., 2019; Colla and Rouphael, 2020; Lee and Ryu, 2021).

8. Conclusiones

- La aplicación de la dosis de NewGibb a 150 ppm (D4), produjo los mejores resultados, lo que estimuló que las semillas emerjan en menor tiempo hacia la superficie del suelo, en comparación con un control de referencia de agua y una dosis baja de *Chlorella* $2x10^2$. Las semillas que no emergen o las condiciones que aumentan el tiempo de emergencia reducen la rentabilidad. Por lo tanto, una emergencia fiable y rápida es un componente clave de una producción eficiente.
- *Chlorella* spp. a una concentración de $2x10^6$ es de gran interés en el presente estudio, ha mostrado que promueve el crecimiento de la planta similar a un bioestimulante químico (NewGibb). El estudio abre la posibilidad de utilizar microalgas del género *Chlorella* spp., como una fuente de bioestimulante en la agricultura orgánica, lo que generará beneficios no solo para la producción agrícola sino también para el medio ambiente.

9. Recomendaciones

- Es necesario realizar más estudios con dosis más amplias de *Chlorella* spp., en tiempos de inmersión más prolongados para concluir su efecto en la emergencia de semillas y recomendar con seguridad a las producciones de cultivos orgánicos.
- El estudio es parte de una investigación base, por lo cual es necesario seguir con las investigaciones y posteriormente evaluar en campo para valorar la efectividad de *Chlorella* spp., frente a las condiciones reales que presenta el cultivo, ya que el ensayo se realizó bajo condiciones controladas.

10. Bibliografía

Abdel Nabi, H., El-Gamily, E., & El-Amoushi, A. (2020). Organic Fertilization and Foliar Application with some Microelements and Biostimulants Effects on Productivity and Quality of Cauliflower. *Journal of Plant Production*, *11*(1), 41-47. https://doi.org/10.21608/jpp.2020.77995

Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., & Ibraheem, I. B. M. (2012). Agricultural importance of algae. *African Journal of Biotechnology*, *11*(54), 11648-11658. doi:10.5897/ajb11.3983

Abed, I. J., Abdulhasan, G. A., & Najem, A. M. (2018). Genotype versus phenotype to determine the definitive identification of the genera *Chlorella beijerinck*, 1890 (chlorellaceae) and Coelastrella chodat, 1922 (scendesmaceae). *Bulletin of the Iraq Natural History Museum*, *15*(1), 101-111.

Al-Juthery, H. W. A., Abbas Drebee, H., Al-Khafaji, B. M. K., & Hadi, R. F. (2020). Plant Biostimulants, Seaweeds Extract as a Model (Article Review). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *553*(1), 012015. https://doi.org/10.1088/1755-1315/553/1/012015

Amavizca, E. (2014). Evaluación del efecto remoto por bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) sobre la microalga *Chlorella vulgaris*. [Tesis para optar por el título de Maestro en Ciencias. Centro de investigaciones bilógicas del Noroeste S.C California]. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/134/1/amavizca_e.pdf (Consultado el 01 de abril de 2022)

Basillo, H. (2021). Microalgas: alternativa sustentable para desarrollo agrícola. Obtenido de Sci Dev Net Acercar la ciencia al desarrollo mediante noticias y análisis: https://www.scidev.net/america-latina/news/microalgas-alternativa-sustentable-para-desarrollo-agricola/ (Consultado el 03 de abril de 2022)

Becerra, X., & Sánchez, G. (2019). Evaluación del potencial de Chlorella spp. en la germinación y producción de zanahoria (*Daucus carota* L.), en sustrato agrícola del lote A1-USME-UAN. [Tesis de maestría en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. Universidad de Manizales-Colombia]. https://ridum.umanizales.edu.co/bitstream/handle/20.500.12746/4054/Becerra_Aldana_Xiomara_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Begum, M., Bordoloi, B. C., Singha, D. D., & Ojha, N. J. (2018). Role of seaweed extract on growth, yield and quality of some agricultural crops: A review. *Agricultural Reviews*, *39*(4), 321-326.

Belmonte Alipaz, I. J. (2011). Evaluación del efecto de dos distancias de siembra y tres dosis de ácido giberélico en el cultivo de coliflor híbrido *(brassica oleracea* var. *botrytis* L.*)* en ambiente protegido [Tesis para optar por el título de ingeniero Agrómomo. Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia]. Repositorio Universidad Mayor de San

Andrés. https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/5568/T-1996.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Consultado el 4 de agosto de 2022)

Bhalamurugan, G. L., Valerie, O., & Mark, L. (2018). Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. *Environmental Engineering Research*, *23*(3), 229-241. https://doi.org/10.4491/eer.2017.220

Bhardwaj, S., Kaushal, R., Kaushal, M., & Bhardwaj, K. K. (2018). Integrated Nutrient Management for Improved Cauliflower Yield and Soil Health. *International Journal of Vegetable Science*, *24*(1), 29-42. https://doi.org/10.1080/19315260.2017.1370762

Bharti, A., Prasanna, R., Kumar, G., Kumar, A., & Nain, L. (2019). Co-cultivation of cyanobacteria for raising nursery of chrysanthemum using a hydroponic system. *Journal of Applied Phycology*, *31*(6), 3625-3635. doi:10.1007/s10811-019-01830-9

Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. (2019). Biostimulants Application in Horticultural Crops under Abiotic Stress Conditions. *Agronomy*, *9*(6), 306. https://doi.org/10.3390/agronomy9060306

Cargua Chávez, J., Orellana Castro, G., Cuenca Tinoco, A., & Cedeño García, G. (2019). Eficacia de bioestimulantes sobre el crecimiento inicial de plantas de fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista ESPAMCIENCIA*, *10*(1), 14-22. Recuperado a partir de http://revistasespam.espam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/184 (Consultado el 05 de abril de 2022)

Devi, H., Liu, S., Zhao, G., Oderanti, F., Guyon, C., & Boshkoska, B. M. (2019). Identifying knowledge brokers, artefacts and channels for waste reduction in agri-food supply chains. *International Journal of Sustainable Agricultural Management and Informatics*, *4*(3-4), 273-289.

Chiaiese, P., Corrado, G., Colla, G., Kyriacou, M. C., & Rouphael, Y. (2018). Renewable sources of plant biostimulation: microalgae as a sustainable means to improve crop performance. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1782.

Colla, G., & Rouphael, Y. (2020). Microalgae: New Source of Plant Biostimulants. *Agronomy, 10(9), 1240.* doi:10.3390/agronomy10091240

Coronado-Reyes, J. A., Salazar-Torres, J. A., Juárez-Campos, B., & González-Hernández, J. C. (2022). Chlorella vulgaris, a microalgae important to be used in Biotechnology: A review. *Food Science and Technology*, *42*, 37320. https://doi.org/10.1590/fst.37320

Darienko, T., Rad-Menéndez, C., Campbell, C., & Pröschold, T. (2019). Are there any true marine Chlorella species? Molecular phylogenetic assessment and ecology of marine Chlorella-like organisms, including a description of Droopiella gen. nov. *Systematics and biodiversity*, *17*(8), 811-829. https://doi.org/10.1080/14772000.2019.1690597

Das, P., Khan, S., Chaudhary, A. K., AbdulQuadir, M., Thaher, M. I., & Al-Jabri, H. (2019). Potential Applications of Algae-Based Bio-fertilizer. En B. Giri, R. Prasad, Q.-S. Wu, & A. Varma (Eds.), *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment* (Vol. 55, pp. 41-65). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_3

Devi, M., Spehia, R. S., Sandeep, M., Mogta, A., & Verma, A. (2018). Influence of integrated nutrient management on growth and yield of cauliflower *(Brassica oleraceae*) var. *botrytis*) and soil nutrient status. *Int. J. Chem. Stud*, *6*, 2988-2991.

Drobek, M., Frąc, M., & Cybulska, J. (2019). Plant Biostimulants: Importance of the Quality and Yield of Horticultural Crops and the Improvement of Plant Tolerance to Abiotic Stress—A Review. *Agronomy*, *9*(6), 335. https://doi.org/10.3390/agronomy9060335

Dudas, S., Sola, I., Sladonja, B., Erhatić, R., Ban, D., & Poljuha, D. (2016). The effect of biostimulants and fertilizer on "low input" lettuce production. *Acta Botanica Croatica*, *75*, 253–259. https://doi. org/10.1515/botcro-2016-0023

E. Eltanahy, A. Torky (2021). Chapter 1: Microalgae as cell factories: food and feed-grade high-value metabolites Microalgal Biotechnol., pp. 1-35, 10.1039/9781839162473-00001

Ecuaplantas. (2022). Bioestimulantes. Obtenido de Ecuaplantas Amamos el campo: https://ecuaplantas.com/categoria/bioestimulantes/ (Consultado el 8 de abril de 2022

El-Moursy, R. S., Abido, W. A. E., & Badawi, M. A. (2019). Response of maize productivity to nitrogen fertilizer and spraying with blue green algae extract. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, *14*(2), 10-20.

Figueiroa-Torres, E. Bermejo-Padilla, J. Pittman, C. Theodoropoulos. (2021). Microalgae strain catalog: a strain selection guide for microalgae users: cultivation and chemical characteristics for high added-value products Manchester, *3*, 1-163, 10.5281/zenodo.5034149

Fleurence, J. (2021). Microalgae: From Future Food to Cellular Factory (1.a ed.). Wiley.

https://doi.org/10.1002/9781119854944

García, S. D. (2017). Bioestimulantes Agrícolas, Definición, Principales Categorías y Regulación a Nivel Mundial. Serie Nutrición Vegetal Núm. 94. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 4 p.

Gheda, S. F., & Ahmed, D. A. (2015). Improved soil characteristics and wheat germination as influenced by inoculation of Nostoc kihlmani and Anabaena cylindrica. *Rendiconti Lincei*, *26*(2), 121-131. doi:10.1007/s12210-014-0351-8

Gitau, M. M., Farkas, A., Balla, B., Ördög, V., Futó, Z., & Maróti, G. (2021). Strain-Specific Biostimulant Effects of Chlorella and Chlamydomonas Green Microalgae on Medicago truncatula. *Plants*, *10*(6), 1060. https://doi.org/10.3390/plants10061060

Gómez Nugra, C. L. (2021). Evaluación de tres dosis de giberelina en el cultivo de nabo (*Brassica napus* L). en la parroquia Chongón, Cantón Guayaquil [Tesis para optar por el título de ingeniero Agrómomo. Universidad de Guayaquil]. (Consultado el 08 de agosto de 2022).

Gómez, F., Trejo, L., Castañeda, O., Ramírez, J., & Lavin, J. (2021). Los bioestimulantes: Una potente alternativa para mejorar la producción de caña de azúcar. Obtenido de ExpoAtam: https://atamexico.com.mx/noticia-de-interes/los-bioestimulantes-una-potente-alternativa-para-mejorar-la-produccion-de-cana-de-azucar/ (Consultado el 08 de abril de 2022).

Gómez-Luna M. L. (2007). Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de química*, *19*(2), 3-20. https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543707001.pdf

González, M. L., Caycedo, C., Velásquez, M. F., Flórez, V., & Garzón, M. (2007). Efecto de la aplicación del ácido giberélico sobre el crecimiento de coliflor (*Brassica oleraceae* var. botrytis) DC. *Agronomía Colombiana*, *25*(1), 54-61.

Granados, E. (2015). Efecto de bioestimulantes foliares en el rendimiento. [Tesis para optar por el título de ingeniero agrónomo con énfasis en cultivos tropicales en el grado académico de licenciado. Universidad Rafael Landívar. Guatemala]. http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2015/06/17/Granados-Erick.pdf (Consultado el 03 de abril de 2022)

GreenTech. (2022). Humisil. Obtenido de GreenTech Naturally Organic: http://www.greentech.com.ec/humisil/ (Consultado el 08 de abril de 2022)

Guamán, L. (2013). Introducción y evaluación del comportamiento de seis híbridos de coliflor (*Brassica oleracea*), con fines de rentabilidad, Cantón Pillaro Provincia del Tungurahua. [Tesis de grado, Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional de Loja]. Repositorio institucional-UNL. (Consultado el 05 de agosto de 2022)

Gupta, R., & Chakrabarty, S. K. (2013). Gibberellic acid in plant. Plant Signaling & Behavior, 8(9), e25504. doi:10.4161/psb.25504

Hamed, S. M., Abd El-Rhman, A. A., Abdel-Raouf, N., & Ibraheem, I. B. (2018). Role of marine macroalgae in plant protection & improvement for sustainable agriculture technology. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *7*(1), 104-110. https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.08.002

Japón, J. (1983). Cultivo extensivo de la coliflor. Obtenido de Ministerio De Agricultura, Pesca Y Alimentación: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1983_07.pdf (Consultado el 04 de abril de 2022)

Jaramillo, J., & Díaz, C. (2006). El Cultivo de las Crucíferas Brócoli, Coliflor, Repollo, Col China. Obtenido de Agrosavia:

https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13457 (Consultado el 08 de abril de 2022)

Karthikeyan, N., Prasanna, R., Nain, L., & Kaushik, B. D. (2007). Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat. *European Journal of Soil Biology*, *43*(1), 23-30. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.11.001

Kessler, E. (1982). Chemotaxonomy in the Chlorococcales. *Progr. Phycol. Res.*, *1*, 111-136.

Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., ... & Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of plant growth regulation*, *28*(4), 386-399.

Kim, M. J., Shim, C. K., Kim, Y. K., Ko, B. G., Park, J. H., Hwang, S. G., & Kim, B. H. (2018). Effect of biostimulator *Chlorella fusca* on improving growth and qualities of chinese chives and spinach in organic farm. *The plant pathology journal*, *34*(6), 567. https://doi.org/10.5423/PPJ.FT.11.2018.0254

Klamczynska, B., & Mooney, W. D. (2017). Heterotrophic Microalgae. En *Sustainable Protein Sources* (pp. 327-339). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00020-2

Konur, O. (Ed.). (2020). Handbook of Algal Science, *Technology and Medicine*. Academic Press

Kucera, B., Cohn, M. A., & Leubner-Metzger, G. (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. Seed science research, 15(4), 281-307.

Lee, S. M., & Ryu, C. M. (2021). Algae as new kids in the beneficial plant microbiome. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 599742.

LignoQuim. (2022). Bioestimulantes. Obtenido de LignoQuim Nutrimos vida: https://lignoquim.com.ec/index.php?route=product/category&path=62 (Consultado el 04 de abril de 2022)

López-Calle, Z. (2018). Efecto de concentración de ácido giberelico en la germinación y crecimiento de plántulas de papaya (*Carica papaya* L.), bajo condiciones de vivero. [Tesis para optar por el título de ingeniera Agrómoma. Universidad Nacional de Piura]. Repositorio Universidad Nacional de Piura. https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/1290/AGR-LOP-CAL18.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Consultado el 6 de agosto de 2022)

Mancuso, S., Azzarello, E., Mugnai, S., & Briand, X. (2006). Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted Vitis vinifera plants. *Advances in Horticultural Science*, *20*, 156-161.

Martini, F., Beghini, G., Zanin, L., Varanini, Z., Zamboni, A., & Ballottari, M. (2021). The potential use of Chlamydomonas reinhardtii and Chlorella sorokiniana as biostimulants on maize plants. *Algal Research*, *60*, 102515. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102515

Mazuela, P., Cepeda, B., & Cubillos, V. (2012). Efecto del injerto y del bioestimulante Fartum® sobre la producción y calidad en tomate cherry. *Idesia (Arica)*, *30*(3), 77-81. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292012000300010

Meena, M. K., Aravindakshan, K., Dhayal, M., Singh, J., & Meena, S. L. (2018). Effect of Biofertilizers and Growth Regulators on Growth Attributes of Cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) cv. Pusa Paushja. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*, 885-890.

Monteiro, E., Gonçalves, B., Cortez, I., & Castro, I. (2022). The Role of Biostimulants as Alleviators of Biotic and Abiotic Stresses in Grapevine: A Review. *Plants*, *11*(3), 396. https://doi.org/10.3390/plants11030396

Neima, H., Ati, A., Rahim, B., Qadir, N., & Fattah, N. (2020). Cauliflower Water Productivity, Growth, and Yield in Response to Irrigation Management Using Different Water Sources. *Journal of Plant Production*, *11*(6), 501-504. https://doi.org/10.21608/jpp.2020.106328

Oancea, F., Velea, S., Fãtu, V., Mincea, C., & Ilie, L. (2013). Micro-algae-based plant biostimulant and its effect on water stressed tomato plants. *Romanian Journal of Plant Protection*, *6*, 104-117.

Odgerel, B., & Tserendulam, D. (2016). Effect of Chlorella as a biofertilizer on germination of wheat and barley grains. *Proceedings of the Mongolian Academy of Sciences*, 26-31.

Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y., & Yamaguchi, S. (2003). Gibberellin biosynthesis and response during Arabidopsis seed germination. The Plant Cell, 15(7), 1591-1604.

Parađiković, N., Teklić, T., Zeljković, S., Lisjak, M., & Špoljarević, M. (2019). Biostimulants research in some horticultural plant species—A review. *Food and Energy Security*, *8*(2), e00162. https://doi.org/10.1002/fes3.162

Pérez-Madruga, Y., López-Padrón, I., & Reyes-Guerrero, Y. (2020). Las Algas como alternativa natural para la producción de diferentes cultivos. *Cultivos Tropicales*, *41*(2). https://www.redalyc.org/journal/1932/193264539009/html/#B8 (Consultado el 01 de abril de 2022)

Pineda, J. (2020). Cultivo de Coliflor. Obtenido de encolombia: https://encolombia.com/economia/agroindustria/agronomia/cultivo-de-coliflor/ (Consultado el 01 de abril de 2022)

Pinto, V. (2013). "Obtención De Plántulas De Coliflor (*Brassica olerace* var. *Botrytis*) a través de activadores ecológicos. [Tesis para optar por el título de ingeniera Agrómoma. Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Universidad Técnica de Ambato. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/7550/1/Tesis-73%20%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20239.pdf (Consultado el 04 de abril de 2022)

Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggesi, A., & Warrior, P. (2016). A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. *Frontiers in plant science*, *7*, 435. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00435

Prasanna, R., Hossain, F., Babu, S., Bidyarani, N., Adak, A., Verma, S., ... & Nain, L. (2015). Prospecting cyanobacterial formulations as plant-growth-promoting agents for maize hybrids. *South African Journal of Plant and Soil*, *32*(4), 199-207. https://doi.org/10.1080/02571862.2015.1025444

Pylak, M., Oszust, K., & Frąc, M. (2019). Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *18*(3), 597-616. https://doi.org/10.1007/s11157-019-09500-5

Ragaza, J. A., Hossain, Md. S., Meiler, K. A., Velasquez, S. F., & Kumar, V. (2020). A review on Spirulina: Alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed. *Reviews in Aquaculture*, *12*(4), 2371-2395. https://doi.org/10.1111/raq.12439

Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. *Agronomy*, *9*(4), 192. https://doi.org/10.3390/agronomy9040192

Roy, R., & Nasiruddin, K. M. (2011). Effect of different level of GA 3 on growth and yield of cabbage. *Journal of Environmental Science and Natural Resources*, *4*(2), 79-82.

Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd_Allah, E. F. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*(4), 709-722. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.003

Shahrajabian, M. H., Chaski, C., Polyzos, N., & Petropoulos, S. A. (2021a). Biostimulants Application: A Low Input Cropping Management Tool for Sustainable Farming of Vegetables. *Biomolecules*, *11*(5), 698. https://doi.org/10.3390/biom11050698

Shahrajabian, M. H., Chaski, C., Polyzos, N., Tzortzakis, N., & Petropoulos, S. A. (2021b). Sustainable Agriculture Systems in Vegetable Production Using Chitin and Chitosan as Plant Biostimulants. *Biomolecules*, *11*(6), 819. https://doi.org/10.3390/biom11060819

Shams, A., & Farag, A. (2019). Implications of Water Stress and Organic Fertilization on Growth, Yield and Water Productivity of Cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*, L.). *Journal of Plant Production*, *10*(10), 807-813. https://doi.org/10.21608/jpp.2019.59471

Sharma, D., Dutta, I., & Choudhary, P. (2022). Growth, Yield and Quality of Cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) as Affected by Integrated Nutrient Management under Low Hill Region of Himachal Pradesh. *Biological Forum – An International Journal 14*, 508-512(2022).

Sitapara, H. H., Vihol, N. J., Patel, M. J., & Patel, J. S. (2011). Effect of growth regulators and micro nutrient on growth and yield of cauliflower cv.'Snowball-16'. *Asian Journal of Horticulture*, *6*(2), 348-351.

Sofian, M., & Susila, A. (2018). Increasing Cauliflower Yields through Fertigation. *Journal of Tropical Crop Science*, 5, 1-5. https://doi.org/10.29244/jtcs.5.1.1-5

Tarazona, A. (2020). Bioestimulantes: ¿Qué son y para qué sirven? Obtenido de Tarazona: https://www.antoniotarazona.com/bioestimulantes-que-son-y-para-que-sirven/ (Consultado el 05 de abril de 2022)

Tello, E.G. (2018). Respuesta agronómica del fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) a un biofertilizante con base en microalgas *Chlorella* y *Scenedesmus*, 2016. [Tesis para optar por el título de ingeniero Agrómomo. Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Central del Ecuador. http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14155/1/T-UCE-0004-A57-2018.pdf (Consultado el 4 de agosto de 2022)

Tello, J., Juárez, V., Vilchez, P., Rodríguez, A., Pedraza, J., Flores, L., Vargas, L., & Ramos, A. (2011). AGRICULTURA FAMILIAR AGROECOLÓGICA CAMPESINA EN LA COMUNIDAD ANDINA. Comunidadandina.org. https://www.comunidadandina.org/StaticFiles/2011610181827revista_agroecologia.pdf Consultado el 07 de noviembre de 2022)

Traon, D., Amat, L., Zotz, F., & du Jardin, P. (2014). A Legal Framework for Plant Biostimulants and Agronomic Fertiliser Additives in the EU-Report to the European Commission, DG Enterprise & Industry.

Tucto, J. (2018). Coliflor – Aprende a sembrar, los cuidados y cosecha de este cultivo. Obtenido de Como plantar: https://como-plantar.com/coliflor/ (Consultado el 01 de abril de 2022)

Uysal, O., Uysal, F. O., & Ekinci, K. (2015). Evaluation of microalgae as microbial fertilizer. *European Journal of Sustainable Development*, *4*(2), 77-77.

Vernieri, P., Borghesi, E., Ferrante, A., & Magnani, G. (2005). pplication of Biostimulants in Floating System for Improving Rocket Quality. *Journal of Food Agriculture and Environment*, *33, 86-88.*

Yadav, A. N., Rastegari, A. A., Yadav, N., & Kour, D. (Eds.). (2020). Advances in plant microbiome and sustainable agriculture: functional annotation and future challenges.

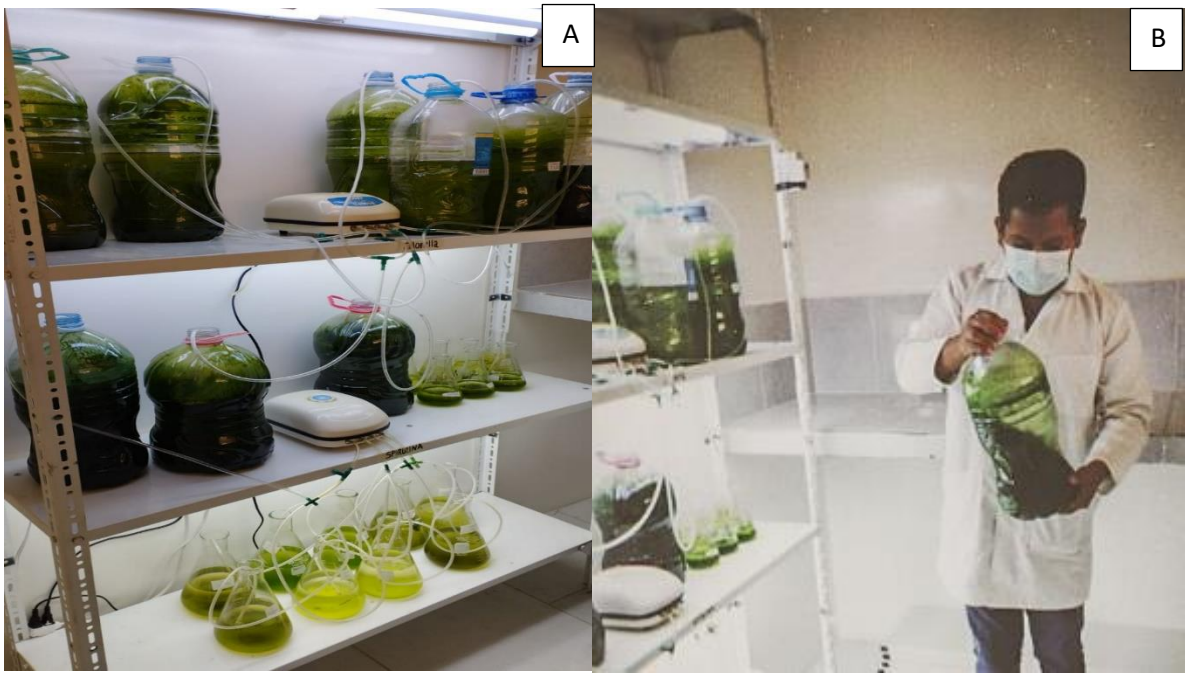
Yara. (2022). Bioestimulantes vegetales Yara. Obtenido de Yara Knowledge grows: https://www.yara.com.ec/nutricion-vegetal/productos/yaravita/bioestimulantes-vegetales/ (Consultado el 08 de abril de 2022)

Zuquilanda, M. (2003). Producción orgánica de hortalizas en la sierra norte y central del Ecuador. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas.

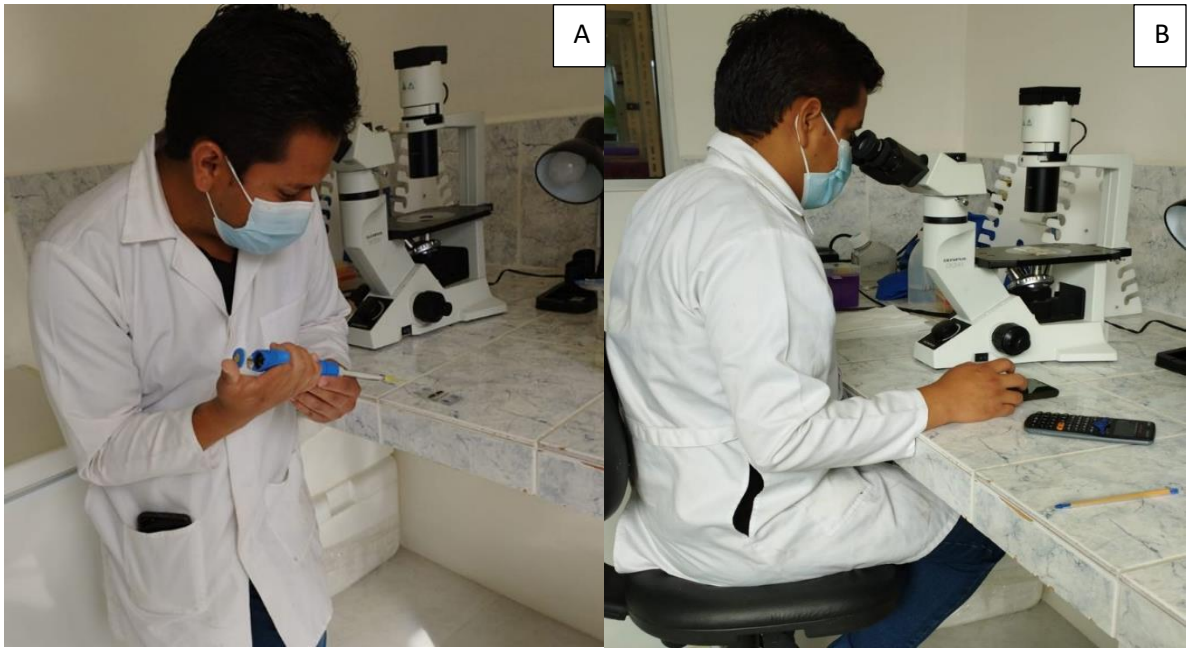
11. Anexos

Anexo 1. Evidencias fotográficas

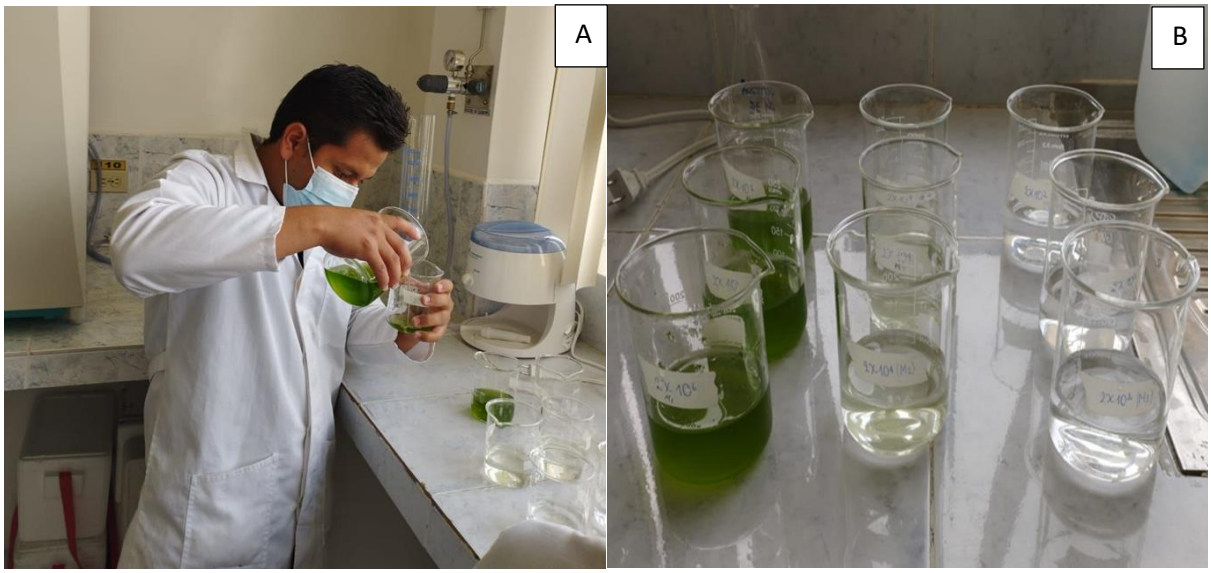
Anexo 1, figura 1. Desarrollo de la investigación. **A)** Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador (CBUNL). **B)** Invernadero de la Quinta Experimental Docente "La Argelia".



Anexo 1, figura 2. A) Colección de cultivos de microalgas del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja. **B)** Toma de muestra de *Chlorella* spp., del biorreactor madre



Anexo 1, figura 3. A) Muestra entre el cubreobjetos y la superficie de la cuadrícula de la cámara de Neubauer en ángulo de 45°. **B)** Conteo de células de *Chlorella* spp.

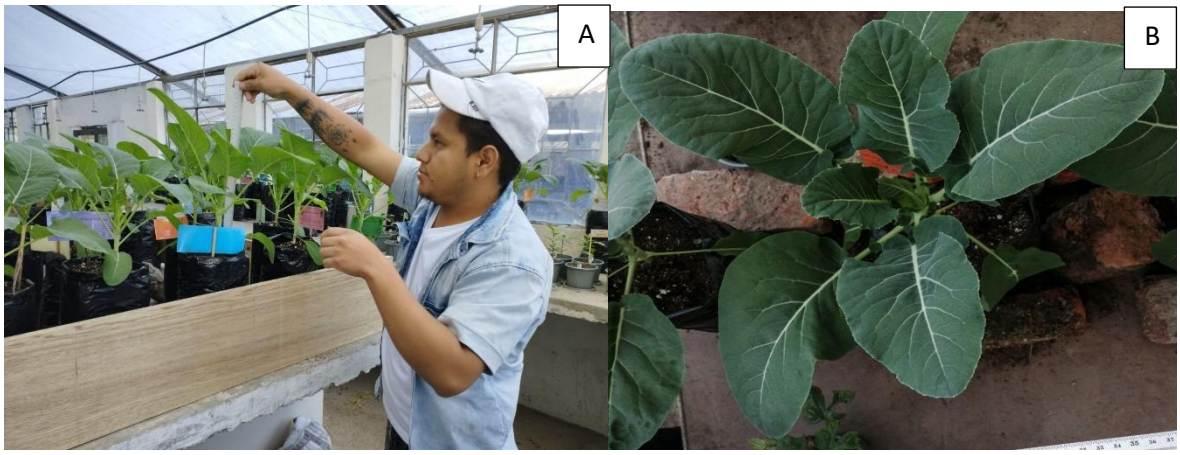


Anexo 1, figura 4. A) Dilución de concentraciones de Chlorella spp. **B)** Soluciones de Chlorella (células/mL) (D1 = $2x10^2$; D2 = $2x10^4$ y D3 = $2x10^6$.

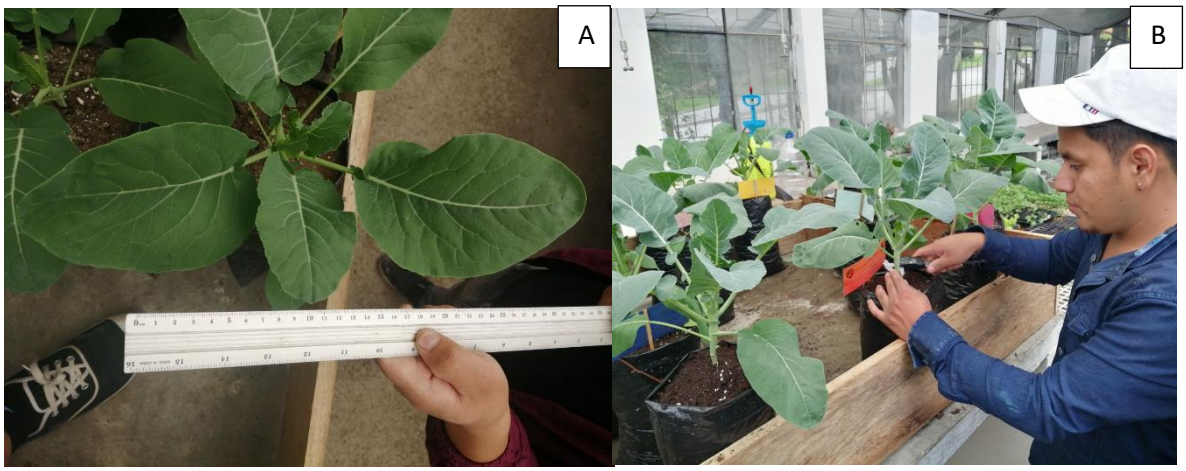
Anexo 1, figura 5. A) Semillas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) sumergidas en 15 tratamientos. **B)** Siembra de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) en semillero y en fundas de vivero.

Anexo 1, figura 6. A) Emergencia de las plántulas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). **B)** Aparición de hojas cotiledonales totalmente desplegadas en plántulas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).

Anexo 1, figura 7. Longitud de la raíz en plántulas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*)



Anexo 1, figura 8. A) Medición de la altura en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). **B)** Número de hojas de las plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).



Anexo 1, figura 9. A) Área foliar en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). **B)** Diámetro del tallo en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*).

Anexo 2. Análisis estadístico en diferentes variables

Anexo 2, tabla 1. Resultados de la Prueba de Kruskal Wallis para la variable días a la emergencia (p valor significativo < 0,05)

Source of Variation	DF	SS	MS	H	P
Chlorella	4	6,067	1,517	9,38	0,0128
Tiempo	2	0,867	0,433	1,25	0,4295
*Chlorella**Tiempo	8	0,467	0,0583	11,25	0,3623
Residual	75	31	0,413		
Total	89	38,4	0,431		

Anexo 2, tabla 2. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable hojas cotiledonales (p valor significativo < 0,05)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	75,93	14	5,42	10,8	<0,0001
Chlorella	65,27	4	16,32	32,49	<0,0001
Tiempo	2,6	2	1,3	2,59	0,0818
*Chlorella**Tiempo	8,07	8	1,01	2,01	0,0568
Error	37,67	75	0,5		
Total	113,6	89			
Normalidad			p (Unilateral D)		
Shapiro-Wilks			0,1653		
Homogeneidad de Varianza			p-valor		
Prueba de Levene			0,3557		

Anexo 2, tabla 3. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable longitud de la raíz (p valor significativo < 0,05)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	191,42	14	13,67	33,67	<0,0001
Chlorella	189,03	4	47,26	116,39	<0,0001
Tiempo	1,92	2	0,96	2,36	0,101
*Chlorella**Tiempo	0,46	8	0,06	0,14	0,9969
Error	30,45	75	0,41		
Total	221,87	89			
Normalidad	p (Unilateral D)				
Shapiro-Wilks	0,4268				
Homogeneidad de Varianza	p-valor				
Prueba de Levene	0,3382				

Anexo 2, tabla 4. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable altura de la planta desde los 18 a los 74 días después de la siembra DDS (p valor significativo < 0,05)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)								
F.V.	**Día 18**	**Día 26**	**Día 34**	**Día 42**	**Día 50**	**Día 58**	**Día 66**	**Día 74**
Chlorella	0,0004	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0003	0,0008	0,0001
Tiempo	0,8218	0,9636	0,9032	0,7407	0,7905	0,871	0,9089	0,633
*Chlorella**Tiempo	0,8216	0,7708	0,7748	0,8872	0,8863	0,627	0,9439	0,977
Normalidad	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)
Shapiro-Wilks	0,8854	0,3815	0,1767	0,2497	0,704	0,7759	0,31	0,3384
Homogeneidad de Varianza	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Prueba de Levene	0,6716	0,0552	0,0764	0,103	0,1394	0,1773	0,4824	0,061

Anexo 2, tabla 5. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable número de hojas (p valor significativo < 0,05)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	**SC**	**gl**	**CM**	**F**	**p-valor**
Modelo	23,62	14	1,69	3,26	0,0005
Chlorella	19,73	4	4,93	9,53	<0,0001
Tiempo	0,16	2	0,08	0,15	0,8608
*Chlorella**Tiempo	3,73	8	0,47	0,9	0,52
Error	38,83	75	0,52		
Total	62,46	89			
Normalidad	P (Unilateral D)				
Shapiro-Wilks	0,0998				
Homogeneidad de Varianza	p-valor				
Prueba de Levene	0,3097				

Anexo 2, tabla 6. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable área foliar (p valor significativo < 0,05)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	**Día 38**	**Día 48**	**Día 58**	**Día 68**	**Día 78**
Chlorella	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Tiempo	0,8461	0,647	0,0674	0,5089	0,991
*Chlorella**Tiempo	0,7721	0,769	0,0884	0,3357	0,3218
Normalidad	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)
Shapiro-Wilks	0,7719	0,0983	0,8712	0,5231	0,2352
Homogeneidad de Varianza	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Prueba de Levene	0,0538	0,1033	0,5295	0,1071	0,1348

Anexo 2, tabla 7. Resultados de la Prueba de ANAVA para la variable diámetro de tallo (p valor significativo < 0,05)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	**Día 40**	**Día 48**	**Día 56**	**Día 64**	**Día 72**	**Día 80**
Chlorella	0,0115	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Tiempo	0,8532	0,4722	0,7152	0,733	0,743	0,5871
*Chlorella**Tiempo	0,8126	0,8389	0,9523	0,6455	0,5302	0,5682
Normalidad	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)	p (Unilateral)
Shapiro-Wilks	0,8219	0,9942	0,7172	0,1275	0,171	0,6478
Homogeneidad de Varianza	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Prueba de Levene	0,1291	0,0654	0,2818	0,4568	0,2197	0,2362

Anexo 3) Certificación de traducción del abstract

Mg. Yanina Quizhpe Espinoza
Licenciada en Ciencias de Educación mención Inglés
Magister en Traducción y mediación cultural

Celular: +593989805087
Email: yaniqes@icloud.com
Loja, Ecuador 110104

Loja, 09 de noviembre de 2022

Yo, Lic. Yanina Quizhpe Espinoza, con cédula de identidad 1104337553, docente del Instituto de Idiomas de la Universidad Nacional de Loja, y certificada como traductora e interprete en la Senescyt y en el Ministerio de trabajo del Ecuador con registro **MDT-3104-CCL-252640,** certifico:

Que tengo el conocimiento y dominio de los idiomas español e inglés y que la traducción del resumen de trabajo de integración curricular**, Eficiencia del bioestimulante de *Chlorella* spp. en el crecimiento de la coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), bajo condiciones controladas en la Quinta Experimental La Argelia**, cuya autoría del estudiante Elvis Rene Sarango Correa, con cédula 1105645269, es verdadero y correcto a mi mejor saber y entender.

Atentamente

YANINA BELEN QUIZHPE ESPINOZA

Firmado digitalmente por YANINA BELEN QUIZHPE ESPINOZA
Fecha: 2022.11.09 10:42:30 -05'00'

Yanina Quizhpe Espinoza.

Traductora