

#### UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

# FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

"COMPORTAMIENTO DE VITROPLANTAS DE ORQUÍDEAS EN DOS SUSTRATOS Y APLICACIÓN DE TRES FERTILIZANTES FOLIARES"

#### TESIS DE INGENIERO AGRÓNOMO

Autor:

César Augusto Vaca Mosc<mark>os</mark>o

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

Director:

Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.

**Codirectora:** 

Ing. Agr. Julia Esther Minchala Patiño

Loja - Ecuador

2019

#### UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

## FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

## CERTIFICACIÓN

Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.

DIRECTOR DE TESIS

En calidad de Director de la tesis titulada "COMPORTAMIENTO DE VITROPLANTAS DE ORQUÍDEAS EN DOS SUSTRATOS Y APLICACIÓN DE TRES FERTILIZANTES FOLIARES", de autoría del señor egresado de la Carrera de Ingeniería Agronómica César Augusto Vaca Moscoso, ha sido dirigida, revisada y aprobada en su integridad; por lo que autorizo su presentación y publicación.

Loja, 30 de mayo de 2017

Atentamente,

Ing. For Victor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc. DIRECTOR DE TESIS

ii

#### UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

# FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

#### CERTIFICACIÓN

Una vez cumplida la reunión del Tribunal de calificación del Trabajo Final de Tesis 
"COMPORTAMIENTO DE VITROPLANTAS DE ORQUÍDEAS EN DOS 
SUSTRATOS Y APLICACIÓN DE TRES FERTILIZANTES FOLIARES" de autoría 
del señor egresado César Augusto Vaca Moscoso, egresado de la carrera de Ingenieria 
Agronómica, se le propuso realizar algunas correcciones, mismas que ya han sido incluidas en 
el documento final.

En tal virtud, nos permitimos certificar que el trabajo final consolidado de investigación está acorde a los requerimientos de la Carrera de Ingeniería Agronómica, por lo tanto se le autoriza continuar con los trámites correspondientes.

Loja, 23 de enero del 2019.

Ing. Edmigio Valdivieso Caraguay, Mg. Sc.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

Ing. Pablo Álvarez Figueroa, Mg. Sc.

VOCAL

VOCAL

Dra. Mirian Irene Capa Morocho, Mg. Sc.

iii

### AUTORÍA

Yo, César Augusto Vaca Moscoso, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: César Augusto Vaca Moscoso

Firma: Tygus o (1508)

Cédula: 1718562927

Fecha: Loja, 4 de febrero de 2019

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL 0 TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, César Augusto Vaca Moscoso, autor de la tesis titulada "COMPORTAMIENTO DE VITROPLANTAS DE ORQUÍDEAS EN DOS SUSTRATOS Y APLICACIÓN DE TRES FERTILIZANTES FOLIARES", como requisito para obtener el grado de: Ingeniero Agrónomo, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

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

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero. Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 4 días del mes de febrero del 2019. Firma el autor.

Autor: César Augusto Vaca Moscoso

Número de cédula: 1718562927

Dirección: Provincia Loja, Cantón Loja, Parroquia San Sebastián

Correo electrónico: csarv 777@hotmail.com

Teléfono celular: 0996541499

#### DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis:

Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.

Codirector de Tesis: Ing. Agr. Julia Esther Minchala Patiño

Tribunal de grado: Ing. Edmigio Valdivieso Caraguay, Mg. Sc.

Dra. Mirian Irene Capa Morocho, Mg. Sc.

Ing. Pablo Álvarez Figueroa, Mg. Sc.

#### **AGRADECIMIENTO**

Deseo expresar mis sinceros agradecimientos a todos quienes hicieron posible la culminación de la presente investigación:

A la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables y a todos los docentes por sus conocimientos y experiencias brindadas durante los años de vida universitaria

De igual manera a todas las personas que han permitido que este trabajo se pueda desarrollar, de manera muy especial a todos los que conforman el equipo de trabajo del laboratorio de Micropropagación Vegetal. Al Ing. José Antonio Moreno por su predisposición y ayuda en la realización del mismo, a la Ing. Julia Esther Minchala Patiño que gracias a su conocimiento en el tema aporto con valiosa información para seguir con la investigación, Ing. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc., por sus consejos y asesoramiento para el buen desarrollo del mismo.

Y finalmente a mis amigos con los cuales he compartido gratos momentos durante los 5 años de aprendizaje y han sido un gran apoyo.

**DEDICATORIA** 

Dedico el presente trabajo a todas aquellas personas que han hecho posible este logro como

son mis amigos, y docentes de la carrera de Ingeniería Agronómica que me han sabido guiar.

A mi familia, de manera muy especial a mis padres, Ramiro Vaca y Margot Moscoso que han

sido las principales personas que me han brindado su amor y apoyo incondicional en todo

momento y sin ellos esto no sería posible.

A mis hermanos Vladimir Vaca y Patricia Vaca por ser parte de las personas que me animan a

superarme y ser mejor.

¡Gracias a todos ustedes!

César A. Vaca Moscoso

vii

## ÍNDICE GENERAL

Conte	nido	Pág.
CERT	IFICACIÓN	ii
APRO	BACIÓN	iii
AUTO	PRÍA	iv
CART	A DE AUTORIZACIÓN	V
AGRA	ADECIMIENTO	vi
DEDIC	CATORIA	vii
ÍNDIC	E GENERAL	viii
ÍNDIC	E DE CUADROS	xii
ÍNDIC	EE DE FIGURAS	xiii
INDIC	E DE ANEXOS	XV
RESU	MEN	xvi
ABST	RACT	xvii
1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.	Generalidades Botánicas de la Familia de las Orquídeas (Orchidaceae).	3
2.2.	Anatomía de las Orquídeas.	4
2.3.	Clasificación Taxonómica.	5
2.4.	Propagación de Orquídeas.	6
2.4.1.	Reproducción sexual.	6
2.4.2.	Reproducción asexual o vegetativa.	6
2.5.	Características de las Plantas Producidas in vitro.	7
2.6.	Aclimatación de vitroplantas.	8
2.7.	Trasplante de vitroplantas a condiciones de invernadero.	8

2.8.	Sustratos para Orquídeas.	9
2.8.1.	Desinfección del sustrato.	10
2.9.	Manejo de Vitroplantas en Vivero.	10
2.9.1.	Temperatura.	10
2.9.2.	Iluminación.	10
2.9.3.	Humedad.	10
2.9.4.	Fertilización.	11
2.9.5.	Enfermedades.	11
2.9.6.	Plagas.	11
2.10.	Estudios Similares de Micro Propagación in vitro de Orquídeas.	11
3	METODOLOGÍA	15
3.1.	Ubicación del Área de Estudio.	15
	Metodología Para Probar Dos Tipos de Sustratos y Evaluar el	
3.2.	Comportamiento en el Trasplante y Adaptación de las Vitroplantas de	
	Orquídea en Invernadero.	16
3.2.1.	Recolección y Obtención de los sustratos.	16
3.2.2.	Preparación del sustrato de laboratorio.	16
3.2.3.	Pre adaptación y adaptación de las vitroplantas de Orquídea.	19
3.2.4.	Siembra de las plántulas de orquídea en los sustratos.	19
3.2.5.	Descripción del diseño experimental.	20
	Metodología para Ensayar Tres Fertilizantes Foliares a Base de Fitohormonas	
3.3.	Para Evaluar el Crecimiento y Desarrollo de las Vitroplantas de Orquídeas en	
	Invernadero.	22
3.3.1.	Obtención y aplicación de los fertilizantes.	22
3.3.2.	Evaluación y toma de datos.	23

3.3.3.	Análisis estadístico de datos.	24
	Metodología Para la Difusión de los Resultados de la Investigación a los	
3.4.	Actores Involucrados, Docentes y Estudiantes de la Carrera de Ingeniería	
	Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.	25
4	RESULTADOS	26
4.1.	Sobrevivencia de las Plántulas.	26
4.2.	Efecto Independiente de Sustratos.	26
4.2.1.	Altura de las plántulas en cada sustrato.	26
4.2.2.	Longitud de las hojas en los sustratos evaluados.	27
4.2.3.	Longitud de las raíces en los sustratos evaluados.	28
4.2.4.	Número de hojas en los sustratos evaluados.	28
4.2.5.	Número de raíces en los sustratos evaluados.	29
4.3.	Efecto Independiente de Fertilizantes Foliares.	30
4.3.1.	Altura de las plántulas en los fertilizantes evaluados.	30
4.3.2.	Longitud de las hojas en los fertilizantes evaluados.	30
4.3.3.	Longitud de raíces en los fertilizantes evaluados.	31
4.3.4.	Número de hojas en los fertilizantes evaluados.	32
4.3.5.	Número de raíces en los fertilizantes evaluados.	32
4.4.	Efecto Combinado Entre Sustratos y Fertilizantes Foliares.	33
4.4.1.	Altura de las plántulas en los tratamientos evaluados.	33
4.4.2.	Longitud de hojas en los tratamientos evaluados.	33
4.4.3.	Longitud de raíces en los tratamientos evaluados.	34
4.4.4.	Número de hojas en los tratamientos evaluados.	35
4.4.5.	Número de raíces en los tratamientos evaluados.	35
4.5.	Difusión de la Información Generada.	36

5	DISCUSIÓN	38
5.1.	Evaluación de Sustratos.	38
5.2.	Evaluación de Fertilizantes.	39
6.	CONCLUSIONES	41
7.	RECOMENDACIONES	42
8.	BIBLIOGRAFÍA	43
9.	ANEXOS	47

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Pág.
Cuadro 1.	Descripción de los diferentes tratamientos según el tipo de sustratos y	
	fertilizante.	21
Cuadro 2.	Hoja de registro de datos, para evaluar incremento de: altura, número	
	de hojas, longitud de hojas, número de raíces, longitud de raíces y	
	sobrevivencia en Orquídeas.	22
Cuadro 3.	Matriz de medidas usadas para el análisis de la información en la	
	aclimatación de vitroplantas de orquídeas.	24

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Contenido	Pág.
Figura 1.	Mapa de ubicación del Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la	
	Universidad Nacional de Loja.	15
Figura 2.	a) Materiales para elaboración del sustrato de laboratorio. b) Sustrato	
	de Ecuagenera. 2016	16
Figura 3.	a) Musgo sphagnum, Corteza de coco y ladrillo picado. b) Sustrato	
	preparado listo para desinfección. 2016	17
Figura 4.	Sustrato desinfectado mediante la utilización de carretilla de vapor.	
	2016	18
Figura 5.	Vitroplantas de orquídeas seleccionadas para la investigación. 2016	19
Figura 6.	Lavado y desinfección de vitroplantas aplicando Kasumin. 2016	20
Figura 7.	Plántulas sembradas y cubiertas para evitar su deshidratación. 2016	20
Figura 8.	Fertilizantes MORE y GREEN MASTER. 2016	23
Figura 9.	Toma de datos de una vitroplanta de orquídea. 2016	23
Figura 10.	a) y b) Plántulas ubicadas en el Jardín Botánico Reinaldo Espinoza.	
	2016	24
Figura 11.	Porcentaje de sobrevivencia en plántulas de orquídea, probando	
	sustrato de Laboratorio y sustrato de ECUAGENERA.	26
Figura 12.	Altura en los diferentes tratamientos, medias con una letra común no	
	son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	27
Figura 13.	Longitud de hojas en los diferentes sustratos, medias con una letra	
	común no son significativamente diferentes (p $> 0.05$ ).	27
Figura 14.	Longitud de raíces en los diferentes sustratos, medias con una letra	
	común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	28
Figura 15.	Número de hojas en los diferentes sustratos, medias con una letra	
	común no son significativamente diferentes (p $> 0.05$ ).	29
Figura 16.	Número de raíces en los diferentes sustratos, medias con una letra	
	común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	29
Figura 17.	Altura en los diferentes fertilizantes, medias con una letra común no	
	son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	30

Figura 18.	Longitud de las hojas según los diferentes fertilizantes, medias con una	
	letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	31
Figura 19.	Longitud de las raíces según los diferentes fertilizantes, medias con	
	una letra común no son significativamente diferentes (p $> 0.05$ )	32
Figura 20.	Altura según los diferentes tratamientos, medias con una letra común	
	no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	33
Figura 21.	Longitud de hojas según los diferentes tratamientos, medias con una	
	letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	34
Figura 22.	Longitud de raíces según los diferentes tratamientos, medias con una	
	letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	34
Figura 23.	Número de hojas según los diferentes tratamientos, medias con una	
	letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	35
Figura 24.	Número de raíces según los diferentes tratamientos, medias con una	
	letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).	36
Figura 25.	A) y B) Difusión de Resultados de Tesis al Equipo Técnico y Docente	
	del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Quinto	
	Año de la Carrera de Ingeniería. Agronómica. Jardín Botánico	
	Reinaldo Espinosa- UNL. Loja - 2016	37

### INDICE DE ANEXOS

Anexo	Contenido	
Anexo 1.	Tabla de datos obtenidos en el experimento utilizados para análisis	
	estadísticos.	46
Anexo 2.	Análisis estadístico para el incremento de altura.	49
Anexo 3.	Análisis estadístico para el incremento de la longitud de hojas.	
Anexo 4.	Análisis estadístico para el incremento de la longitud de raíces.	51
Anexo 5.	Análisis estadístico para el incremento de número de hojas.	52
Anexo 6.	Análisis estadístico para el incremento de número de raíces.	53
Anexo 7.	Difusión de los Resultados de la Investigación a los Actores	
	Involucrados, Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de	
	Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Quinto Año de la Carrera	
	de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.	54
Anexo 8.	Tríptico divulgativo del presente trabajo de Investigación.	56

"COMPORTAMIENTO DE SUSTRATOS Y APLICACIO		
SUSTRATOS Y AFLICACIO	ON DE TRES FERTILIZ	ANTES FOLIARES

**RESUMEN** 

Las orquídeas obtenidas in vitro presentan buena germinación y desarrollo en laboratorio,

pero obtienen elevada mortalidad al ser trasplantadas en el sustrato para su desarrollo in vivo,

motivo por el cual se realizó esta investigación, considerando de importancia brindar a las

plántulas un sustrato y fertilización según sus requerimientos.

El presente trabajo se desarrolló en el invernadero del Laboratorio de Micropropagación

Vegetal, y el Jardín Botánico "Reinaldo Espinosa" de la Universidad Nacional de Loja; con la

finalidad de probar dos tipos de sustratos y tres fertilizantes foliares para evaluar el desarrollo

de las vitroplantas.

Para lograr la aclimatación se realizó la pre adaptación de las vitroplantas, ubicando los

frascos con las vitroplantas seleccionadas en el cuarto de aclimatación, donde posteriormente

se realizó la siembra, garantizándoles condiciones de humedad y luz necesarias para su

adaptación.

Para la siembra in vivo se utilizó dos sustratos: El del laboratorio y de Ecuagenera, y; tres

fertilizantes: MORE, GREEN MASTER y hormonas sintéticas, aplicados cada 8 días, las

variables evaluadas fueron: sobrevivencia, altura de la planta, longitud de hojas, longitud de

raíces, número de hojas y número de raíces.

Los resultados obtenidos, mostraron que el sustrato de Ecuagenera presentó los mejores

resultados de sobrevivencia, con el 51.66 %, y para las otras variables los incrementos

promedio en cm de: altura 0.39, longitud de hojas 0.34, longitud de raíces 1.16, y; el número

de 0.90 hojas y 1.15 raíces.

El fertilizante MORE presentó mejores resultados en las variables evaluadas con los

siguientes promedios de incremento en cm: altura 0.55, longitud de hojas 0.44, longitud de

raíces 1.45, y; número de raíces 1.13; a excepción del número de hojas siendo superado por el

de fitohormonas y el control.

La interacción del sustrato de Ecuagenera + MORE obtuvo mejores resultados con los

siguientes promedios de aumento en cm: altura 0.99, longitud de hojas 0.78, longitud de

raíces 2.61, y; número de raíces 2, a excepción del número de hojas siendo superado por las

interacciones de: sustrato de Ecuagenera + testigo, con 1.27 y sustrato de Ecuagenera +

fertilizante sintético con 1.47.

Palabras clave: Ecuagenera, vitroplantas, in vitro, fitohormonas, sustratos, sintéticas.

xvi

#### **ABSTRACT**

The orchids obtained in vitro present good germination and development in the laboratory, but they obtain high mortality placing them in substrates for their development in vivo, reason for which this research was carried out, considering of importance to provide the seedlings with a substrate and fertilization according to their requirements. The present work was developed in the greenhouse of the Plant Micropropagation Laboratory, and the Botanical Garden "Reinaldo Espinosa" of the National University of Loja; with the purpose of testing two types of substrates and three foliar fertilizers to evaluate the development of vitroplants. In order to achieve acclimatization, the pre-adaptation was carried out first, placing the jars with the selected vitroplants in the place where the sowing was subsequently carried out, guaranteeing the necessary humidity and light conditions. For the sowing, two substrates were used: laboratory and Ecuagenera, and; three fertilizers: MORE, GREEN MASTER and synthetic hormones, applied every 8 days, the evaluated variables were: survival, height of the plant, length of leaves, length of roots, number of leaves and number of roots. The substrata of Ecuagenera presented better results in survival with 51.66%, and for the other variables the average increases in cm of: height 0.39, leaves 0.34, roots 1.16, and; the amount of 0.90 leaves and 1.15 roots. The MORE fertilizer showed better results in the variables evaluated with the following averages of increase in cm: height 0.55, leaves 0.44, roots 1.45, and number of roots 1.13; except for the number of leaves being surpassed by the one of phytohormones and the control. The substrate interaction of Ecuagenera + MORE obtained better results with the following averages of increase in cm: height 0.99, leaves 0.78, roots 2.61, and; number of roots 2, except for the number of leaves being exceeded by the interactions of: substrate Ecuagenera + control, with 1.27 and substrate Ecuagenera + synthetic fertilizer with 1.47.

**Keywords**: Ecuagenera, vitroplants, in vitro, phytohormones, substrates, synthetics.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Las orquídeas son plantas en su mayoría epífitas que tienen una amplia distribución, especialmente en zonas tropicales como es la amazonia Ecuatoriana, así mismo, se encuentran una amplia variedad de estas que se han adaptado a condiciones de la región andina y se las cultiva principalmente por la belleza de sus flores.

Según Barbery & Morales (2011), la mayor diversidad de orquídeas se concentra en las regiones tropicales del planeta, en países como Colombia, Ecuador y Perú. La pérdida de los espacios vitales determina potencialmente la disminución de la diversidad y poblaciones de orquídeas, por lo tanto éstas estarían sujetas a un proceso acelerado de extinción, a esto se suma la sobreexplotación de algunas orquídeas consideradas como ornamentales por parte de las personas, que las comercializan sin ningún control. El país posee cuatro de las cinco subfamilias existentes a escala mundial, lo que significa 4032 especies que hasta el momento han sido clasificadas y publicadas, de las cuales 1714 especies son endémicas; incluso aquí se encuentra la especie de orquídea más pequeña del mundo (*Platystele enervis*), con 2,1 milímetros de dimensión. (Ministerio de Turismo, 2014).

Según McKendrick (2000), las orquídeas presentan problemas serios para su propagación en forma natural debido a que la mayor parte de las semillas están escasamente diferenciadas, por lo que no se les distinguen los cotiledones, ni las radículas y carecen de endospermo. Las orquídeas son las plantas que producen la mayor cantidad de semillas por superficie, pero sus principales problemas mediante reproducción natural son dos: el bajo porcentaje de germinación y viabilidad de la especie; y, las condiciones del crecimiento que tienen como plantas epífitas que hacen que las semillas que caen en el suelo u hojarasca no germinen, y solamente se desarrollen las que caen en las ramas de los árboles y logran tener una relación de simbiosis entre un hongo (micorriza) y el embrión, una vez desarrollada la plántula se da la interacción con sus raíces (Elicriso, 2015).

Los sustratos de siembra muchas veces son uno de los aspectos que menos se toma en cuenta al momento de cultivar orquídeas sin percatarnos que constituye la base fundamental para el establecimiento y crecimiento de nuestra planta, tanto el sustrato como la maceta de siembra es un aspecto esencial dado que allí es donde se establecerá el crecimiento radicular y constituirá el medio de fijación que la sustentará por unos cuantos

años. Hay que tener en mente que sin un buen medio de cultivo, no se obtendrán plantas sanas, fuertes y bien desarrolladas. (ORQUIDEARIO PUEBLO NUEVO, 2013)

Con estos antecedentes, se realizó la presente investigación sobre aclimatación de plantas de orquídeas obtenidas mediante técnicas de propagación *in vitro*, donde se evaluaron dos tipos de sustratos y tres diferentes fertilizantes foliares, debido a la mortalidad que las plantas de esta familia presentan al momento de realizar la siembra al sustrato definitivo, produciendo pérdidas de material de germoplasma.

La presente investigación tuvo como finalidad crear una metodología para la fase de aclimatación de las vitroplantas de orquídeas y de esta manera aumentar la sobrevivencia de las plantas a condiciones ambientales de orquídeas, las mismas que fueron obtenidas del Jardín Botánico Reinaldo Espinosa. La investigación tuvo una duración de 7 meses, comprendidos desde abril hasta octubre del 2016.

Los objetivos que orientaron la presente investigación fueron:

- Probar dos tipos de sustratos y evaluar el comportamiento en el trasplante y adaptación de las vitroplantas de orquídea en invernadero.
- Ensayar tres fertilizantes foliares a base de fitohormonas para evaluar el crecimiento y desarrollo de las vitroplantas de orquídeas en invernadero.
- Difundir los resultados de la investigación a los actores sociales interesados, docentes y estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica.

#### 2. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Generalidades Botánicas de la familia de las orquídeas (Orchidaceae)

Las orquídeas constituyen una de las familias botánicas más jóvenes desde el punto de vista evolutivo y una de las que agrupa mayor número de especies (entre 20000 y 30000), distribuidas por todo el mundo. La mayoría de las orquídeas se localizan en las regiones tropicales y subtropicales, donde alcanzan gran tamaño, variedad y belleza floral —de ellas proceden las orquídeas cultivadas— y donde muchas viven sobre los troncos y ramas de los árboles, a los que utilizan únicamente como soporte, por lo que se las denomina orquídeas epífitas. En las zonas templadas las orquídeas son todas terrestres y presentan tamaño más reducido, aunque también encontramos entre ellas gran variedad de formas y extraordinaria complejidad floral. (Serrano, 2009).

Son atractivas para fines horticulturales y se distinguen, entre otras plantas, por la peculiaridad de sus flores, especialmente por las transformaciones que sufre el labelo, o "pétalo central", que presenta complejos colores y formas, a veces como si imitaran a los insectos que las polinizan. Las orquídeas desarrollan complicadas interacciones con sus polinizadores (abejas, avispas); así como también, con hongos del suelo, con los que sus raíces mantienen relaciones simbióticas (Noboa et al.,2006).

Esta familia de plantas forma parte del ecosistema de los bosques por su aporte en diversidad. Además, de engalanar los arboles con sus hermosas flores, crean interacciones muy estrechas y específicas con otros organismos, tal es el caso de los hongos microscópicos o micorrizas que facilitan la germinación de las semillas de las orquídeas o con insectos variados, como las abejas, moscas y avispas además de aves, involucrados en la polinización de las flores. Estas plantas en su hábitat natural se encuentran creciendo mayormente de forma epífita, es decir sobre otras plantas, utilizando a su planta hospedera solo como soporte mecánico o sustrato y produciendo su propio alimento a través de la fotosíntesis, utilizando la luz solar, nutrientes y agua que obtienen del ambiente (Serrano, 2009).

Las semillas de orquídeas son conocidas usualmente como semillas de polvo porque son minúsculas y contienen pocas reservas de alimento. Usualmente estas semillas no germinan en el medio natural a menos que sean infectadas por un hongo micorrítico, el mismo que abastece a las plantas jóvenes con azúcares y nutrientes que necesitan hasta

que sean lo suficientemente grandes para fabricar su propio alimento. Cuando la semilla germina produce una masa indiferenciada de células llamada protocormo. Manteniendo las condiciones normales, el protocormo continuará su crecimiento por varias semanas, meses o incluso años dependiendo de la especie hasta que alcance la edad apropiada para producir raíces y hojas (McKendrick, 2000).

#### 2.2. Anatomía de las Orquídeas

Una planta de orquídea está constituida por las siguientes partes:

Las raíces según Díaz (2013), algunas se adhieren al sustrato y otras son aéreas ambas tienen una importante función de la absorción de agua, humedad y otras partículas de donde obtienen su alimento; los tallos llamados también seudobulbos con una singular forma, permiten acumular nutrientes y servir de reserva. Menchaca (2011), señala que las raíces de las orquídeas aéreas están forradas por unas fundas de células muertas y esponjosas llamadas velamen. Poseen clorofila bajo esa cubierta, lo que les permite realizar la fotosíntesis, y facilita la absorción de agua y minerales, ya que estas plantas dependen para su nutrición de las lluvias periódicas, nieblas y ramas húmedas; pueden crecer en todas direcciones y sirven para sujetarse al tronco o ramas de los árboles

Las inflorescencias pueden estar constituidas de una sola flor o por uno o varios racimos de muchas flores. El crecimiento de las orquídeas puede ser de tipo monopódico con un tallo que crece verticalmente o de tipo simpódico con muchos o varios tallos creciendo horizontalmente (Santos & Ruiz, 2005).

Las flores tienen una forma muy particular que las hace diferentes a las flores de otras familias de plantas, su estructura consta de tres sépalos y tres pétalos de los cuales el labelo o labio ha cambiado con el paso del tiempo para servir como punto de atracción y "pista" de aterrizaje para los polinizadores, la calumna es una estructura que contiene las partes femeninas y masculinas de la planta. El polen en las orquídeas esta empaquetado en unos saquitos llamados polinios y protegidos por una capucha llamada antera (Robledo, 2012). Casi todas las flores de las orquídeas son hermafroditas. Solamente en los géneros *Catasetum, Cycnoches y Mormodes*, las flores tienen sexos separados (Mateos & Durán, 2006).

Los frutos son capsulas que contienen miles de diminutas semillas, que tienen el aspecto de un polvo. Para que estas germinen requieren estar asociadas a un hongo específico

micorriza en las primeras etapas de crecimiento, luego al alcanzar el grado de desarrollo

como plántula este deja de ser necesario. La germinación de una semilla de orquídea es

variable en la naturaleza, si se encuentran las condiciones necesarias, hay muchas

posibilidades que sobrevivan y logren llegar a formar una planta. El éxito radica en la

germinación pero también en dispersar las semillas eficientemente para encontrar el

hábitat donde logren crecer y establecerse (Rivera, 2014)

En todas las orquídeas, las hojas son siempre simples, es decir no presentan divisiones,

los márgenes son enteros y no tienen aserraduras ni espinas, por lo general son alargadas

y angostas, las cuales se conservan durante muchos años. Las hojas de especies que viven

en lugares muy calurosos son cilíndricas, lo que evita que se deshidraten rápido. Los

tallos pueden ser de tres tipos principales: tallos cilíndricos, pseudobulbos o cormos.

(Barbery & Morales, 2011)

2.3. Clasificación Taxonómica

La clasificación de las orquídeas es bastante compleja porque las múltiples hibridaciones

entre especie y también entre géneros diferentes, que hacen incierta la clasificación

botánica. Basta pensar que en los últimos 150 años han sido producidos más de 110.000

híbridos (llamados grexes o grex). Por suerte tienen caracteres generales bastante

uniformes si se considerara un plan de organización floral y ofrecen por tanto, un raro

ejemplo de una infinidad de formas, colores, adaptaciones que convergen todo en una

única tipología floral. (Díaz, 2013).

Las orquídeas son plantas fanerógamas, es decir plantas que tienen órganos reproductivos

hacinados y pertenecen:

Phylum:

Euphyta

División:

Angiospermae

Clase:

Monocotiledóneas

Orden:

Gynandreae

Familia:

Orchidaceae. (Elicriso, 2015)

Existen cerca de 650 géneros, mientras las especies están próximas a 25000. Los híbridos

son innumerables (cerca 100000).

5

#### 2.4. Propagación de Orquídeas

Según Bernardos y Tyteca (2000), la propagación de las orquídeas puede ser de dos tipos reproducción sexual y asexual.

#### 2.4.1. Reproducción Sexual

Es la que se produce en la naturaleza cuando el polen es transportado desde una flor a otra por los diferentes agentes polinizadores como abejas, avispas, mariposas, aves y mosquitos, produciéndose la fecundación del óvulo que se convertirá en semilla. Luego de la polinización se iniciará la formación del fruto que contendrá miles de semillas que se diseminaran y germinaran formando nuevas plantas no identificadas genéticamente a los padres (Serrano, 2009).

La reproducción sexual se puede lograr por polinización natural o artificial. La natural es la que se produce en la naturaleza, mientras que la artificial es producto de la manipulación controlada de forma manual realizada por el ser humano. La polinización puede ser autógama o cruzada. La polinización artificial cruzada se utiliza para obtener híbridos de orquídeas. Para llevar a cabo la polinización artificial es necesario desprender los polinios con ayuda de un pincel e insertarlos en el estigma que es parte del órgano femenino de la flor, ambos localizados en la parte superior de la columna (Esaú, 2003).

Propagación *in vitro* por medio de semillas: es la propagación de orquídeas a partir de semillas obtenidas sexualmente en un medio de cultivo que contiene un alimento (micro y macro nutrientes) muy similar al que aportaría el hongo en la naturaleza. Se realiza en un laboratorio con equipo especializado y bajo condiciones asépticas, se designa también cultivo *in vitro*, su costo es alto pero los resultados son muy buenos en la mayoría de los casos (Dueñas & Fernández, 2007).

#### 2.4.2. Reproducción asexual o vegetativa

Es la que se produce a partir de la division de la planta madre, las plantas producto de esta division son clones de la madre (geneticamente idénticos). Algunos métodos son: división de tallos, keiques o keiquis, esquejes o estacas, reproduccion por meristemos. (Santos & Ruiz, 2005).

#### 2.5. Características de las plantas producidas in vitro

No es necesaria la actividad fotosintética durante las primeras etapas de la planta en condiciones *in vitro*, puesto que a la planta se le suministran los elementos básicos para su desarrollo mediante un medio nutritivo, encontrándose así en un estado heterotrófico y pasándose a un estado autotrófico al ser trasplantado al suelo (Robledo, 2012).

George & Sherrington (2013), mencionan que la alta humedad y baja luminancia que prevalecen durante el cultivo *in vitro* provocan que la cutícula de las hojas sean delgadas, Brainerd & Fuchigami (2005), observaron que debido a ello las hojas presentan células en empalizada con grandes espacios intercelulares y baja frecuencia de estomas; esto hace que las plántulas producidas sean susceptibles a la desecación cuando se trasladan a condiciones externas (*ex vitro*). Los estomas de las plántulas *in vitro* son menos operativos y permanecen abiertos; por ello las plántulas al pasar a aclimatarse pueden presentar un importante estrés hídrico durante las primeras horas de la adaptación (Barbery & Morales, 2011).

Como consecuencia cuando se transfiere una planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones *in vivo* es más baja; las hojas producidas de una planta *in vitro*, son frecuentemente finas, blandas, fotosintéticamente poco activas, los estomas no son lo suficientemente operativos, la conducción entre vástagos y raíces que se han originado *in vitro* no se establece adecuadamente en el sustrato, tienen pocos pelos radicales o en algunos casos ninguno, por lo que mueren rápidamente debiendo ser sustituidas por nuevas raíces (Pierik, 1990).

Existen alteraciones en la anatomía de las plántulas *in vitro*, mostrando baja actividad fotosintética, incluso si la clorofila está presente en las hojas y es probable que las enzimas responsable de esta actividad están inactivas o ausentes (Grout, 2009).

Algunas veces las plantas cultivadas *in vitro* no sobreviven al ser trasladadas fuera del frasco hacia un medio ambiente de condiciones más rigurosas. Los principales cambios implican: disminución de la humedad, incremento de la intensidad lumínica, baja disponibilidad de nutrientes y la presencia de patógenos. Las plántulas sacadas de los frascos generalmente van de grandes hasta pequeñas y débiles, y muchas veces estas últimas mueren durante la aclimatación (León, 2015).

#### 2.6. Aclimatación de vitroplantas

La aclimatación de las vitroplantas a condiciones ambientales naturales (*ex vitro*), es un proceso lento, que debe hacerse muy gradualmente para llevar un material vegetal de una condición de 100 % de humedad relativa a valores muy inferiores, como 40 – 50 %. Inicialmente a la plántula se le mantiene cubierta con un plástico, en forma hermética para luego ir paulatinamente permitiendo la entrada de aire externo (Sierra, 2012). Las plántulas in *vitro* requieren de un período para adaptarse a las condiciones "*in vivo*" y lograrse la aclimatación para ser trasplantadas al terreno definitivo (Barbery & Morales, 2011).

#### 2.7. Trasplante de vitroplantas a condiciones de invernadero

Según Barbery & Morales (2011), una vez que las plantas se han desarrollada en los medios de cultivo *in vitro* y han desarrollado completamente sus raíces, es posible transferirlas a un medio exterior. Para ello es necesario contar con un pequeño invernadero o vivero en el cual se puede sacar las vitroplantas del medio de cultivo.

Los pasos para transferir y aclimatar las vitroplantas a condiciones externas son los siguientes:

- Retirar las tapas de plástico o papel aluminio que tengan los frascos.
- Retirar con mucho cuidado los plantines, tratando de no dañar las raíces de las plantas.
- Lavar las raíces con abundante agua de grifo para eliminar el medio de cultivo y agar de las raíces de las vitroplantas.
- Sumergir las plantas completas en una solución diluida de fungicidas (ejemplo, Benomyl).
- Colocar las plantas en los sustratos adecuados. Si son epifitas como *Catleya nobilior* escoja sustratos como coco molido, ladrillos, carbón, etc.
- Antes se debe esterilizar el sustrato colocando unos 10 cm del mismo en una bandeja, cubrirlo con papel aluminio y exponerlo a unos 80°C en el horno de la cocina. Dejar actuar durante 30 minutos y enfriar antes de utilizarlo. Esto nos ayudara a eliminar posibles contaminantes.
- Cubrir las macetas con los plantines con un plástico transparente por al menos dos semanas luego de su transferencia. Es necesario mantener la humedad lo más alto

posible para evitar deshidratación y muerte de las plantas. Luego de las dos semanas ir destapando cada día un poco el plástico hasta que las plantitas estén habituadas a sus nuevas condiciones de menor humedad y mayor intensidad lumínica.

 No colocar las plantas directamente en el sol, tratar de colocar una malla de sombra para proteger las vitroplantas, al menos durante las dos primeras semanas en el invernadero o vivero.

#### 2.8. Sustratos para Orquídeas

Algunas de las características del sustrato o medio son: dar apoyo o soporte, mantener la humedad, ser pobre en sales, tener una buena aireación, debe descomponerse lentamente, ser poroso, accesible y barato. Los sustratos gruesos tienden a ser muy parecidos al hábitat natural. Hoy día se encuentran en el comercio sustratos ya preparados para orquídeas (Dueñas & Fernández, 2007).

León (2015), menciona que los materiales para preparar un sustrato pueden ser de dos tipos los orgánicos e inorgánicos, ambos reúnen características importantes que aportan las condiciones necesarias para que una orquídea logre crecer y desarrollarse bien. Entre ellos podemos encontrar:

- El carbón vegetal (orgánico), aumenta la acidez del sustrato, retiene agua, tiene la capacidad de absorber ácidos y sales.
- La granza de arroz (orgánico), retiene durante mucho tiempo el agua.
- La fibra de coco (orgánico), mantiene la humedad.
- Pedazos o cuadritos de coco (orgánico), contribuyen a una mejor aireación y mantienen la humedad.
- La piedra cuarta (inorgánico), mejora la aireación
- La piedra pómez (inorgánico), retiene humedad.
- La piedra volcánica (inorgánico), retiene agua.
- El estereofón (inorgánico), cáscara de macadamia (orgánico) y los coquitos de palmera aceitera (orgánico) proveen drenaje, los dos últimos deben ser curados exponiéndolos al sol y lavándolos.
- El musgo blanco sphagnum sp. (orgánico), retiene gran cantidad de agua pero se encuentra en peligro de extinción en su forma natural en el bosque, es posible hoy en día comprar este musgo en forma de cubo comprimido al cual agregándole agua se expande, este es cultivado y producido con permisos, y se consigue en el comercio.

La orquídea necesita de musgo estrictamente para su desarrollo, independientemente del material que asociado le brinda una característica edáfica especial (Webster, 2012).

Por su parte Bonifacino (2012), menciona que las cortezas de árboles, en forma de ramas o placas, duplican las condiciones de las orquídeas epífitas en el bosque. Muchas alternativas para un medio de cultivo adecuado se presentan al cultivador de orquídeas. La selección debe basarse en la disponibilidad de estos materiales, y en las necesidades de agua de las orquídeas implicadas. Estas necesidades pueden encontrarse mejor al elegir un medio que al usarse, se aproxime al ciclo de riegos (humedad – sequía), es decir el tiempo entre riegos, recomendado para el tipo de orquídea cultivada. Para un cultivo exitoso de las orquídeas cualquiera sea el medio usado, este debe ser bien ventilado.

#### 2.8.1. Desinfección del sustrato

Antes de efectuar el trasplante es recomendable que el sustrato sea esterilizado en una autoclave a una temperatura de 100° C, por 30 a 60 minutos (dependiendo de la cantidad de sustrato), lo cual reducirá la incidencia de patógenos, particularmente aquellos que causan la pudrición de la raíz (Rivera, 2014).

#### 2.9. Manejo de vitroplantas en vivero.

#### 2.9.1. Temperatura

Las orquídeas son muy susceptibles a cambio brusco de temperatura, por ello es conveniente cultivarlas en lugares muy similares a donde se desarrollan naturalmente.

#### 2.9.2. Iluminación

Es importante colocar las orquídeas bajo sombra, evitando exponerlas directamente el sol sobre todo en horas de la tarde.

#### **2.9.3.** Humedad

Es un factor importante para el buen desarrollo de las orquídeas en los viveros. Generalmente deben hacerse dos riegos semanales, siempre verificando que el sustrato se haya secado entre un riego y otro. El riego excesivo es el causante en muchas ocasiones, más que la falta de agua, de la muerte de nuestras plantas.

#### 2.9.4. Fertilización

Es muy importante para el buen crecimiento y floración de las plantas de orquídeas. Usar un fertilizantes en proporción 7-9-5 (N-P-K) para el desarrollo de la planta y uno especial más alto en fosforo, como 3-12-6 (N-P-K) para estimular la floración se debe hacer cada 15 días a 1 mes. No hay que exagerar en la fertilización ya que puede causar muerte de las raíces y las puntas de las hojas.

#### 2.9.5. Enfermedades

Existen varias enfermedades que pueden atacar las plantas en el vivero. Cuando presentan manchas oscuras en las hojas o flores, es muy probable que sea un hongo quien este causando el problema, para ello se puede pulverizar sus plantas con fungicida como el Benomyl en cantidades que especifique el producto. Otras enfermedades pueden ser asociadas a bacterias que presentan lesiones acuosas o manchas redondeadas en las hojas o pseudobulbos. En este caso la causa es generalmente el abundante riego, para ello se debe cortar la parte afectada y evitar el riego por varios días. (Barbery & Morales, 2011). Otro problema es la presencia de manchas que son causadas por virus. No existen remedios para curar estas enfermedades, por ello se debe evitar la diseminación a otras plantas, retirando las enfermas y aplicando productos para combatir el transmisor que generalmente es la cochinilla.

#### **2.9.6.** Plagas

Hay varias plagas que afectan nuestras orquídeas en el vivero. Cochinillas marrones o algodonosas, pulgones, babosas y caracoles pueden causar serios daños. Para ello se debe tratar con insecticidas o productos naturales que los combata y realizar fumigaciones periódicas para evita la presencia principalmente de cochinillas que transmiten otras enfermedades (Serrano, 2009).

#### 2.10. Estudios similares de micro propagación in vitro de orquídeas.

La propagación *in vitro* y cultivo de las orquídeas fue tomando mayor importancia, a partir de las investigaciones de Knudson (1922) quien trabajando con semillas pudo germinarlas en un medio simple con azúcar y a partir de estas investigaciones una gran cantidad de orquídeas se han podido propagar a partir de segmentos de hoja, segmentos nodales de plántulas provenientes de semillas germinadas *in vitro*, nudos florales, ápices, rizomas y secciones apicales. Destacan los trabajos de Arditti & Ernst (1993) quienes describen las metodologías de propagación *in vitro* de 83 especies de orquídeas en las

cuales se utiliza prácticamente toda la planta como fuente de explante y destacan los medios de cultivo Murashige & Skoog (MS), Knudson (KC) y Vacin y Went (VW). Los suplementos orgánicos naturales más importantes son el agua de coco, pulpa de plátano, caseína hidrolizada, entre otros. Goh (1990) realizó un trabajo exhaustivo del cultivo in vitro de orquídeas simpodiales que crecen a lo largo de un rizoma como los géneros *Epidendrum, Dendrobium, Cattleya, Oncidium, Bulbophyllum y Encyclia*, entre otros (Mosquera, 2012).

Tradicionalmente, las orquídeas se han propagado asexualmente mediante división de plantas. Sin embargo, se ha demostrado que es posible obtener un gran número de plantas a partir de la germinación de semillas utilizando métodos de cultivo *in vitro*. El cultivo de tejidos se ha venido utilizando para la producción comercial de orquídeas, principalmente para los géneros *Phalaenopsis*, *Oncidium*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, y *Paphiopedilum*, tal es el caso de Taiwán, donde se ha visto incrementada la producción de orquídeas del 51% en 1998 al 85% para el año 2000 (Díaz, 2013). Diversos factores se han estudiado en la industria para la propagación de *Oncidium*, entre ellos el uso mínimo de medios de cultivo, adición de fitohormonas y otros aditivos como peptona, carbón activado, jugo de plátano, entre otros.

Según Hágsater & Soto (2000) la supervivencia *ex vitro* en fibra de palma soyate, a los 90 días de haber iniciado el proceso de aclimatación en vitroplantas de *Laelia eyermaniana* Rchb. f. fue en promedio de 46.9%, obteniéndose un valor más alto con plantas grandes. El mayor porcentaje de mortalidad, ocurrió entre los 60 y 90 días, principalmente en plántulas pequeñas (21.87 %) y medianas (31.25 %).

Según Billard, Barsanti, & Lallana (2014), realizaron estudios sobre el cultivo *in vitro* y aclimatación de plantas de *Polystachya concreta* (Orchidaceae), en donde para la aclimatación de las vitroplantas utilizaron cuatro sustratos, dos preparados (P1; P2) y dos comerciales (C1; C2). El sustrato preparado (P1), estuvo constituido de cáscara de pino finamente compostada, turba de Sphagnum, tierra fértil y perlita en proporciones (1:1:1:1), el sustrato (P2) constituido de cáscara de pino finamente compostada, cáscara de arroz carbonizada y perlita en proporciones (2:1:1); y, los sustratos comerciales (C1) TerraFértil® compuesto por compost orgánico, turba de Sphagnum, acícula de pino, resaca de río y perlita, el sustrato comercial (C2) TerraFértil® compuesto por compost orgánico, turba de Sphagnum, acícula de pino, resaca de río y perlita.

Transcurrido un mes de aclimatación se observó en la bandeja con sustrato P2 19 plantas muertas. En los demás sustratos, la supervivencia fue de 100 %, y las plantas en el sustrato C1 manifestaron más vigor y coloración que en el C2. A los 60 días de iniciado el proceso de aclimatación la supervivencia fue de 0 % para el sustrato preparado (P2) y de 100 % para los sustratos comerciales (C1 y C2). La última observación (90 días) la situación se mantuvo prácticamente igual registrándose 2 plantas muertas en el sustrato C2, por lo tanto la supervivencia fue de 91.6 % y se mantuvo en 100 % para el C1, observándose una mejor calidad y aspecto de las plantas en el sustrato C1.

Guato (2014), estudió sobre la influencia de cuatro tipos de sustrato en la fase inicial de desarrollo de dos especies de Orquídeas (*Dendrobium earsakul y Dendrobium* sky blue), obtenidas por cultivo in vitro, en donde para la aclimatación uso sustratos como Musgo importado 75 % + 25 % pomina; musgo nacional 75 % + 25 % pomina; turba nacional 75% + 25% pomina; musgo importado 75 % + 25 % poliestireno; musgo nacional 75 % +25 % poliestireno; turba nacional 75 % +25 % poliestireno; turba nacional 75 % +25 % poliestireno y fibra de helecho 70 % +carbón 10 % + pomina 20 %, obtuvo como resultado que el tratamiento T4 y T11 con musgo importado 75 % + poliestireno 25 %, se alcanzó los mayores porcentajes de prendimiento, número de hojas y altura de plantas.

Según Vasquez (2005), realizó estudios sobre aclimatación de plántulas de *Epidendrum schomburgkii* (Lindl.) propagadas *in vitro*, en donde para determinar el sustrato más adecuado para plántulas de *Epidendrum schomburgkii*, uso como sustrato fibra de raíz de helecho arbóreo, fibra del fruto de coco, corteza de llangua, corteza de quinilla, obteniendo como resultado que las plántulas que mejor desarrollo tuvieron fueron las que se aclimataron en el sustrato de fibra de raíz de helecho arbóreo seguido por el sustrato de fibra de coco.

Según Mendieta (2013), la Inducción al enraizamiento y aclimatación de vitroplantas de orquídeas (*Epidendrum quinquepartitum* Schltr.) con distintos niveles de ácido naftalenacético a diferentes sustratos. En donde para determinar la aclimatación y enraizamiento ex vitro de la orquídea nativa *Epidendrum quinquepartitum* Schltr., se usó distintos sustratos y distintas concentraciones de ANA aplicadas exógenamente, siendo así que para la etapa de etapa de aclimatación, el sustrato el xaxim mostró ser el más efectivo en la sobrevivencia de individuos, asimismo no se recomienda el uso de la mezcla de carbón y trozos de ladrillo como sustrato para la aclimatación, debido a que el sustrato no proporciona el medio adecuado para los plantines a causa de la falta de

retención de agua, que se traduce en la pérdida total de las plantas. En cuanto al enraizamiento ex vitro, la combinación xaxim y de 100 mg L<sup>-1</sup> de ANA aplicado de exógenamente, generó el valor más alto de sobrevivencia con un 90 %. Del mismo modo, esta combinación mostró ser la mejor en cuanto al desarrollo.

#### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Ubicación del Área de Estudio

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables; y, en el Jardín Botánico Reinaldo Espinosa, ubicados al sur de la provincia de Loja, en el barrio la Argelia, ubicado geográficamente entre las siguientes coordenadas:

Latitud: 04°00′00′′ Sur

Longitud: 79°12′00′′ Oeste

Altitud: 2135 msnm

Según Holdridge (1983) ecológicamente corresponde a la zona de vida Bosque Seco Montano Bajo (bs- MB), con una temperatura media anual de 15.3 °C, precipitación de 900 mm anuales y una humedad relativa del 71.96 %. El clima según Kuppen es templado lluvioso (Sierra, 2012).



Figura 1. Mapa de ubicación del Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja.

## 3.2. Metodología para probar dos tipos de sustratos y evaluar el comportamiento en el trasplante y adaptación de las vitroplanta de Orquídea en invernadero.

La presente investigación se realizó utilizando vitroplantas desarrolladas en el laboratorio de Micropropagación Vegetal, las cuales fueron reproducidas a partir de especies que se encuentran en el Jardín Botánico Reinaldo Espinosa.

La metodología utilizada para esta investigación fue diseñada y aplicada en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja.

El objetivo de esta fase fue probar dos tipos de sustratos y evaluar el comportamiento en el trasplante y adaptación de las vitroplantas de orquídea en invernadero.

#### 3.2.1. Recolección y Obtención de los sustratos

El sustrato de ECUAGENERA se obtuvo mediante pedido en fundas de 2 kg; y, la colecta de los diferentes materiales para la mezcla del sustrato de laboratorio se realizó en zonas naturales que consistió en: musgo sphagnum, ladrillo picado y corteza de coco (Figura 2).

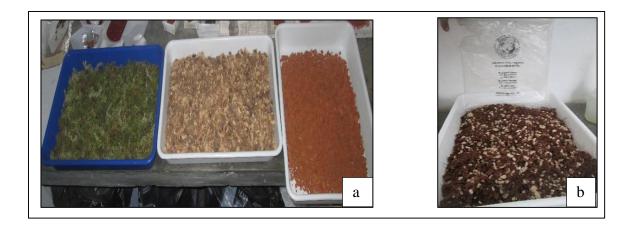


Figura 2. a) Materiales para elaboración del sustrato de laboratorio. b) Sustrato de Ecuagenera. 2016

#### 3.2.2. Preparación del sustrato de laboratorio

El sustrato de laboratorio estuvo compuesto por corteza de coco, musgo Sphagnum y ladrillo, en proporciones 2:2:1 respectivamente, el mismo que fue picado en partículas pequeñas de 0.5 a 1.0 cm. (Figura 3).

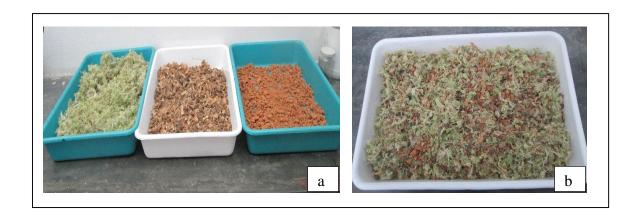


Figura 3. a) Musgo sphagnum, Corteza de coco y ladrillo picado. b) Sustrato preparado listo para desinfección. 2016

Para determinar la cantidad de material a utilizarse según el número de vitroplantas (60 por sustrato), se realizó el cálculo del peso de un recipiente vacío para después poder obtener la diferencia de pesos con respecto a cada sustrato. La cantidad de sustrato para llenar un recipiente fue de: corteza de coco 7.14 g, musgo sphagnum 2,08 g y ladrillo picado 86.44 g.

Seguidamente para determinar la cantidad de cada componente del sustrato según las proporciones antes mencionadas, se realizó los siguientes cálculos mediante la regla de tres simple:

#### Peso de acuerdo al porcentaje señalado por planta.

#### Corteza de coco (40 %)

X= (peso del sustrato\* porcentaje del sustrato)/100

Corteza de Coco = 
$$\frac{7.14 \text{ g x } 40}{100}$$
 = 2.856 g

#### Musgo Sphagnum (40 %)

X= (peso del sustrato\* porcentaje del sustrato)/100

Musgo Sphagnum = 
$$\frac{2.08 \text{ g x } 40}{100}$$
 = 0.832 g

#### Ladrillo picado (20 %)

X= (peso del sustrato\* porcentaje del sustrato)/100

Ladrillo Picado = 
$$\frac{86.44 \text{ g x } 20}{100}$$
 = 17.288 g

De esta manera se logró definir la cantidad de cada componente del sustrato para que una vez mezclados llenen un recipiente. Las cantidades de cada componente fueron de 2.856 g de corteza de coco, 0.832 g de musgo sphagnum y 17.288 g de ladrillo picado.

Para determinar la cantidad de cada sustrato para el experimento, se realizó los siguientes cálculos:

Peso del componente del sustrato por experimento = peso del sustrato \* 60 recipientes.

#### Corteza de coco

2.856 g x 60=171.36 g

#### Musgo Sphagnum

0.832 g x 60=49.92 g

#### Ladrillo picado

17.288 g x 60=1037.28 g

Finalmente se mezcló los materiales hasta que quedo un sustrato uniforme.

El sustrato elaborado fue desinfectado antes de la siembra en esterilizadora a vapor durante dos horas a 110 °C (Figura 4), después de esto se procedió a humedecer el sustrato por un día y seguidamente fue colocado en los respectivos recipientes.



Figura 4. Sustrato desinfectado mediante la utilización de carretilla de vapor. 2016

#### 3.2.3. Pre adaptación y adaptación de las vitroplantas de Orquídea

Se realizó la selección de las vitroplantas de tres especies de orquídeas: *Cyrthchilum serratum*, *Gongora ecornuta* y *Catleya máxima* las cuales presentaban las mejores características con respecto a tamaño, color, número de hojas y raíces para colocarlas en el invernadero del Laboratorio de Micropropagación Vegetal para su pre adaptación (Figura 5). Se llevaron las plantas al invernadero del laboratorio y se las dejo durante dos semanas para que se pre adapten a las condiciones naturales de temperatura, humedad y luminosidad.

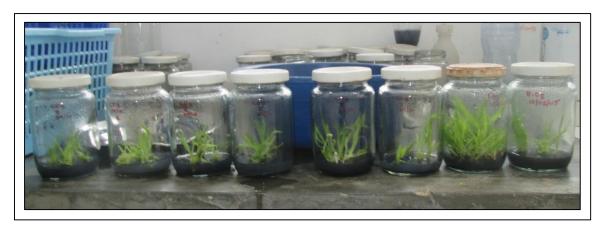


Figura 5. Vitroplantas de orquídeas seleccionadas para la investigación. 2016

#### 3.2.4. Siembra de las plántulas de orquídea en los sustratos

Luego de transcurrido dos semanas de pre adaptación se realizó la siembra de las plántulas para lo cual fueron lavadas con la finalidad de eliminar el agar de sus raíces, y sumergidas en una solución de kasumin al 2 % durante 5 minutos para eliminar posibilidades de contaminación por hongos, se las coloco en papel absorbente para eliminar el exceso de kasumin, seguido se realizó la siembra de las plántulas teniendo cuidado principalmente en las raíces y tomando datos de cada plántula (Figura 6), una vez colocadas fueron cubiertas con una funda plásticas con la finalidad que se forme un microclima húmedo, evitando la deshidratación. Finalmente se colocó adhesivos con la información correspondiente para poder identificar cada planta, seguidamente se procedió a ubicarlas en su lugar correspondiente (Figura 7).

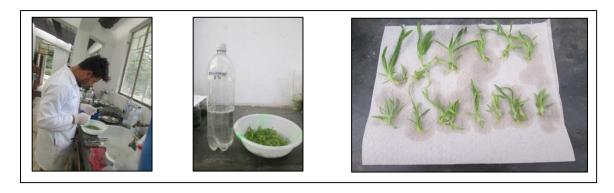


Figura 6. Lavado y desinfección de plántulas aplicando Kasumin. 2016



Figura 7. Plántulas sembradas y cubiertas para evitar su deshidratación. 2016

## 3.2.5. Descripción del diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) bifactorial (2 x 4; 2 sustratos y 4 fertilizantes), con 8 tratamientos y 3 repeticiones para toda la investigación (Cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de los diferentes tratamientos según el tipo de sustratos y fertilizante.

Tratamiento	Sustrato	Fertilizante	Combinación
T1	S1	Testigo	S1Testigo
<b>T2</b>	<b>S</b> 1	F1	S1F1
Т3	<b>S</b> 1	F2	S1F2
<b>T4</b>	<b>S</b> 1	F3	S1F3
Т5	S2	Testigo	S2Testigo
Т6	S2	F1	S2F1
<b>T7</b>	S2	F2	S2F2
Т8	S2	F3	S2F3

S1: Sustrato de laboratorio, S2: Comercial de ECUAGENERA, F1: MORE, F2: Fitohormonas, F3: Green Master

### 3.2.5.1. Especificaciones del diseño experimental

Unidad experimental: 5 plantas/ tratamiento

Número de sustratos: 2

Número de fertilizantes: 3 + 1 testigo

Número de tratamientos: 8

Número de repeticiones: 3

Número total de vitroplantas por experimento: 120

#### 3.2.5.2. Unidad Experimental

La unidad experimental fue el conjunto de 5 plantas/ tratamiento, para lo cual se sembró una planta por maceta. Las variables que se evaluaron fueron:

- Incremento de altura,
- Número de hojas
- Longitud de hojas
- Número de raíces
- Longitud de raíces

#### Sobrevivencia

Para la evaluación de las variables mencionadas anteriormente, se tomaron registros antes de ser sembradas y durante cada mes (Cuadro 2).

Cuadro 2. Hoja de registro de datos, para evaluar el incremento de: altura, número de hojas, longitud de hojas, número de raíces, longitud de raíces y sobrevivencia en orquídeas.

Fecha:							
Tratamiento	Nº de	Sobrevivencia	Altura	Longitud	Longitud	Número	Número
	planta			de hojas	de raíces	de hojas	de raíces
T1	1						
••••	••••						
••••	••••						
	100						
T8	120						

# 3.3. Metodología para ensayar el efecto de tres fertilizantes foliares a base de fitohormonas para evaluar el crecimiento y desarrollo de las vitroplantas de orquídeas en invernadero.

#### 3.3.1. Obtención y aplicación de los fertilizantes

Los fertilizantes utilizados en el ensayo fueron: hormonas sintéticas de laboratorio, MORE y GREEN MASTER, los cuales fueron disueltos en agua para su aplicación.

Los fertilizantes MORE Y GREEN MASTER fueron adquiridos en los almacenes agropecuarios los cuales estuvieron constituidos de macroelementos, auxinas, citoquininas y ácidos húmicos, la concentración fue de 2.0 ml L<sup>-1</sup> (Figura 8). La solución de hormonas sintéticas fue elaborada en el laboratorio con las concentraciones de 1.0 mg L<sup>-1</sup> de Kinetina, 0.5 mg L<sup>-1</sup> de Ácido Giberélico y 0.5 mg L<sup>-1</sup> de Ácido Indolbutírico. Para los tratamientos testigo se utilizó únicamente agua sin añadir ningún tipo de fertilizante.



Figura 8. Fertilizantes MORE y GREEN MASTER. 2016

#### 3.3.2. Evaluación y toma de datos

Se realizó la toma de datos de las plántulas sacadas del laboratorio, antes de ser sembradas al sustrato y durante cada mes para lo cual se utilizó hojas de papel milimétrico, considerando incremento en las variables de: altura, número de hojas, longitud de hojas, número de raíces, longitud de raíces y Sobrevivencia (Figura 9).

La fertilización se realizó cada 8 días luego del trasplante al sustrato para su aclimatación dependiendo del tratamiento, en el caso de la aplicación directa de la solución de fitohormonas sintéticas se la suspendió, ya que las plántulas presentaban un marchitamiento y amarillamiento seguido de la muerte.



Figura 9. Toma de datos de una plántula de orquídea. 2016

Al terminar la aclimatación las plantas fueron llevadas a su ubicación definitiva en el orquideario del Jardín Botánico Reinaldo Espinoza, en donde se continuó con la toma de datos hasta que se cumplió 7 meses desde su siembra (Figura 10).

Para calcular el incremento en las variables se utilizó la siguiente formula:

Incremento=Valor final-valor inicial



Figura 10. a) y b) Plántulas ubicadas en el Jardín Botánico Reinaldo Espinoza. 2016

#### 3.3.3. Análisis estadístico de datos

Software InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2008) versión 2014: análisis de varianza ANOVA estableciendo diferencias significativas con el test de Tukey a un nivel de significancia de 0.05. Se probaron supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad para cada una de las variables. En el Cuadro 3 se presenta la matriz con las medidas resumen empleada para el análisis de la información.

Cuadro 3. Matriz de medidas usadas para el análisis de la información en la aclimatación de vitroplantas de orquídeas.

	Al	NÁLISI	S DE LA	VARIANZA	_			
VARIABLE	N		$\mathbb{R}^2$	R <sup>2</sup> Aj	CV			
		_						
F.V.	S	2	Gl	CM	FC	P-valor		
Modelo								
Factor A								
Factor B								
Interacción A x l	3							
Error						•		
Total								
	ŗ	TEST:	TUKEY	<b>ALFA=0,05</b>				
Error:	gl:							
Tratamiento	Medias	N			EE			
Medias con una	letra común	no son s	significat	ivamente difer	entes $(p > 0)$	.05)		
C.V: coeficiente	de variación							
E.E: error estánd	ar							

3.4. Metodología para la difusión de los resultados de la Investigación a los actores involucrados, docentes y estudiantes de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.

Para la difusión de los resultados de la presente investigación y dar cumplimiento a este objetivo se realizó lo siguiente:

- Se socializó los resultados de la investigación, a través de una exposición a los técnicos del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y a los estudiantes de cuarto año de la Carrera de Ingeniería Agronómica (Anexo 17 y 18).
- Se elaboró un tríptico con la finalidad de dar a conocer los resultados obtenidos de la presente investigación.
- Folleto técnico con los resultados del trabajo de investigación.
- Finalmente, se redactó un artículo científico para difundir los resultados de la investigación, a nivel de la Universidad Nacional de Loja, Carrera de Ingeniería Agronómica y Biblioteca del FARNR.

#### 4. **RESULTADOS**

#### 4.1. Sobrevivencia de las Plántulas

Las plántulas mostraron una sobrevivencia del 36.67 % y una mortalidad del 63.33 % en los dos sustratos ensayados en el experimento.

Evaluando la sobrevivencia por sustrato se logró observar que el sustrato comercial de ECUAGENERA presentó mejores resultados con un 51.67 % de sobrevivencia y una mortalidad del 48.33 %, al compararlo con el sustrato de laboratorio el cual presentó una sobrevivencia del 21.67 % y una mortalidad del 78.33 % (Figura 11).

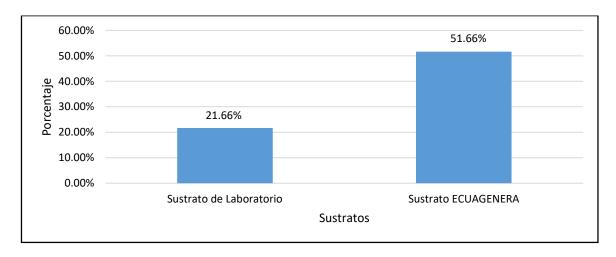


Figura 11. Porcentaje de sobrevivencia en plántulas de orquídea, probando sustrato de laboratorio y sustrato de ECUAGENERA.

#### 4.2. Efecto independiente de sustratos.

Para poder determinar cuál fue el mejor sustrato en el comportamiento, trasplante y adaptación de las plántulas de orquídea en invernadero se realizó la evaluación de los distintos sustratos dando los siguientes resultados según cada variable.

#### 4.2.1. Altura de las plántulas en cada sustrato.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento de altura, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre tratamientos con una p= 0.0004 (Anexo 2).

Al evaluar la altura en las plántulas de orquídeas se determinó utilizando la prueba de Tukey, que el mejor sustrato es el de ECUAGENERA (S2) el cual presentó un aumento promedio en la altura de 0.39 cm, frente al sustrato de laboratorio (S1) con un promedio de 0.12 cm (Figura 12).

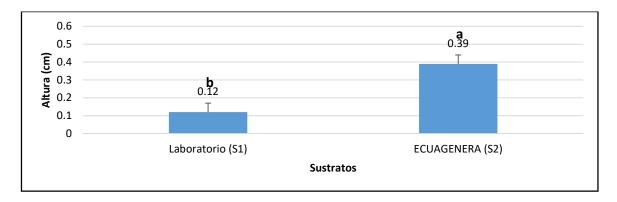


Figura 12. Altura en los diferentes tratamientos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

### 4.2.2. Longitud de las hojas en los sustratos evaluados

En lo referente al análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento de la longitud de hojas, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias estadísticas significativas entre sustratos con una p= 0.0082 (Anexo 3).

Al evaluar la longitud de hojas, se determinó utilizando la prueba de Tukey que el mejor sustrato es el de ECUAGENERA (S2) el cual presentó un aumento promedio en longitud de las hojas de 0.34 cm, frente al sustrato de laboratorio (S1) con un promedio de 0.13 cm (Figura 13).

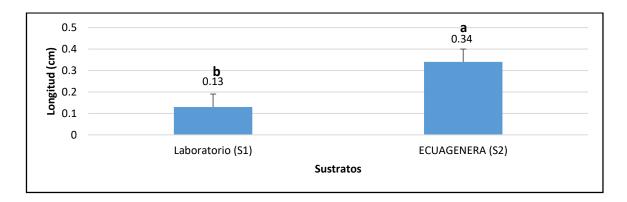


Figura 13. Longitud de hojas en los diferentes sustratos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.2.3. Longitud de las raíces en los sustratos evaluados

En lo relacionado al análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento de la longitud de raíces, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre sustratos con una p= 0.0045 (Anexo 4).

En cuanto a la longitud de las raíces, se identificó utilizando la prueba de Tukey que el mejor sustrato fue el de ECUAGENERA (S2), el cual presentó un aumento promedio en longitud de las raíces de 1.16 cm, frente al sustrato de laboratorio (S1) con un promedio de 0.42 cm (Figura 14).

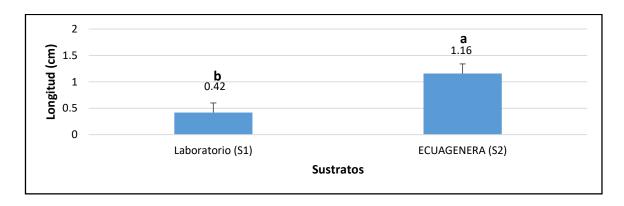


Figura 14. Longitud de raíces en los diferentes sustratos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.2.4. Número de hojas en los sustratos evaluados

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el aumento de numero de hojas, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre sustratos con una p= 0.0012 (Anexo 5).

Al evaluar el aumento de número de hojas, se determinó utilizando la prueba de Tukey que el mejor sustrato fue el de ECUAGENERA (S2) el cual presentó un aumento promedio de las hojas de 0.90, frente al sustrato de laboratorio (S1) con un promedio de 0.17 hojas (Figura 15).

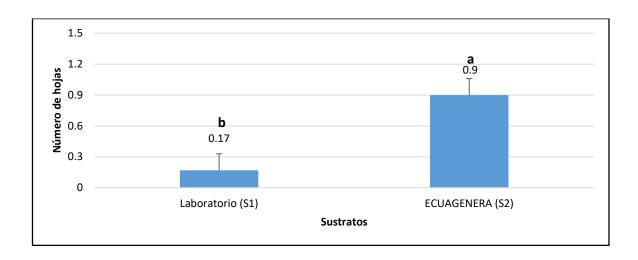


Figura 15. Número de hojas en los diferentes sustratos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.2.5. Número de raíces en los sustratos evaluados

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el aumento de numero de raíces, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre sustratos con una p= 0.0007 (Anexo 6).

Al evaluar el número de raíces que presentaron las plantas de orquídea en el invernadero, se determinó mediante la prueba de Tukey que el mejor sustrato fue el de ECUAGENERA (S2) el cual presentó un aumento promedio de las raíces de 1.15, frente al sustrato de laboratorio (S1) con un promedio de 0.33 (Figura 16).

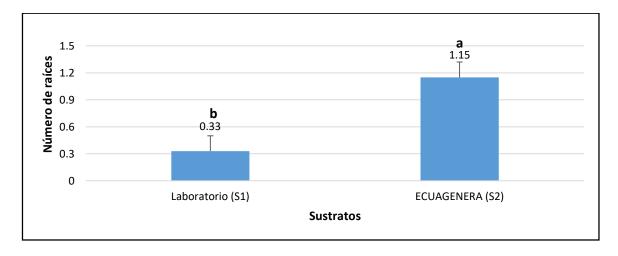


Figura 16. Número de raíces en los diferentes sustratos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.3. Efecto independiente de fertilizantes foliares.

Para poder determinar cuál fue el mejor fertilizante foliar a base de fitohormonas evaluando el crecimiento y desarrollo de las plántulas de orquídeas en invernadero, se realizó la evaluación de los distintos fertilizantes dando los siguientes resultados según cada variable.

#### 4.3.1. Altura de las plántulas en los fertilizantes evaluados

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento de altura, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre fertilizantes con una p= 0.0001 (Anexo 2).

Al evaluar la altura de las vitroplantas, se determinó utilizando la prueba de Tukey que el mejor fertilizante fue MORE el cual presentó un aumento promedio en altura de 0.55, frente a los otros fertilizantes utilizados (Figura 17).

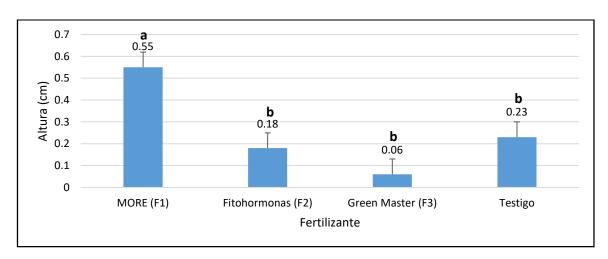


Figura 17. Altura en los diferentes fertilizantes, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.3.2. Longitud de las hojas en los fertilizantes evaluados

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento en longitud de las hojas, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre fertilizantes con una p= 0.0072 (Anexo 3).

En cuanto a la longitud de las hojas, se determinó mediante la prueba de tukey que el mejor fertilizante es MORE (F1), el cual presentó un aumento promedio en la longitud de

hojas de 0.44 cm, frente a los otros fertilizantes utilizados, siendo el menos eficiente el fertilizante Green Master (Figura 18).

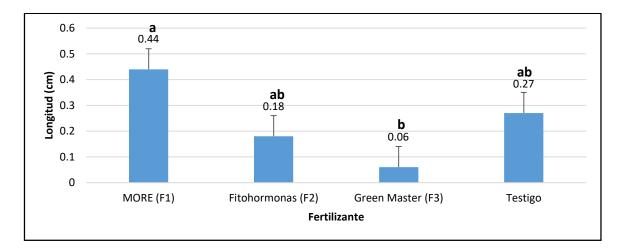


Figura 18. Longitud de las hojas según los diferentes fertilizantes, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.3.3. Longitud de raíces en los fertilizantes evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento en longitud de las raíces, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre fertilizantes con una p=0.0056 (Anexo 4).

En lo referente a longitud de raíces se determinó utilizando la prueba de Tukey que el mejor fertilizante es MORE (F1) el cual presentó un aumento promedio en longitud de las raíces de 0.44 cm, frente a los otros fertilizantes utilizados, siendo menos eficaz los fertilizantes de fitohormonas (F2), y Green Master (F3) (Figura 19).

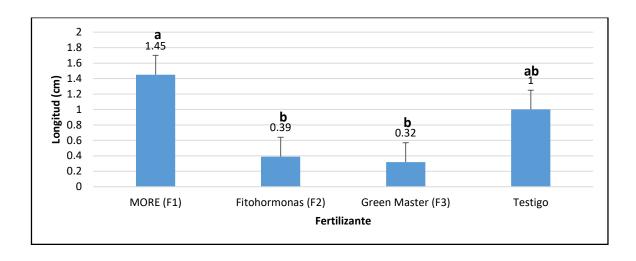


Figura 19. Longitud de las raíces según los diferentes fertilizantes, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.3.4. Número de hojas en los fertilizantes evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el aumento de hojas, se pudo determinar que los datos no presentaron diferencias significativas entre fertilizantes con una p= 0.1380 (Anexo 5).

En cuanto al número de hojas se determinó utilizando la prueba de tukey que el fertilizante de fitohormonas de laboratorio tuvo un aumento promedio de hojas de 0.77 igual al tratamiento testigo, y determinando que el menos efectivo fue el Green Master con un aumento promedio de 0.13 hojas.

#### 4.3.5. Número de raíces en los fertilizantes evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el aumento de raíces, se pudo determinar que los datos no presentaron diferencias significativas entre fertilizantes con una p= 0.0797 (Anexo 6).

En cuanto al número de raíces se pudo determinar al utilizar la prueba de Tukey que el fertilizante MORE tuvo un aumento promedio de raíces de 1.13, y que el menos efectivo fue el Green Master con un aumento promedio de 0.30 raíces.

#### 4.4. Efecto combinado entre sustratos y fertilizantes foliares.

Para poder determinar cuál fue el mejor tratamiento evaluando la interacción entre sustratos y fertilizantes foliares bajo condiciones de invernadero se realizó la evaluación de las variables dando los siguientes resultados.

#### 4.4.1. Altura de las plántulas en los tratamientos evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento en altura, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre tratamientos con una p=<0.0001 (Anexo 2).

Al evaluar la altura se determinó utilizando la prueba de tukey que la mejor interacción se llevó a cabo entre el sustrato de ECUAGENERA y MORE (T6) el cual presentó un aumento promedio en altura de 0.99 cm, frente a los otros fertilizantes utilizados (Figura 20).

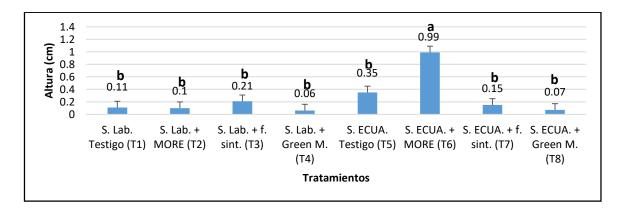


Figura 20. Altura según los diferentes tratamientos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.4.2. Longitud de hojas en los tratamientos evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento en longitud de las hojas, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre tratamientos con una p= 0.0045 (Anexo 3),

Al evaluar la longitud de las hojas, se determinó utilizando la prueba de Tukey que el mejor tratamiento es la interacción entre el sustrato de ECUAGENERA y MORE (T6), el cual presentó un aumento promedio en la longitud de las hojas de 0.78 cm, frente a los otros fertilizantes utilizados, siendo el menos eficaz el tratamiento 4 (S. de laboratorio + Green Master) con un aumento promedio de 0.05 cm (Figura 21).

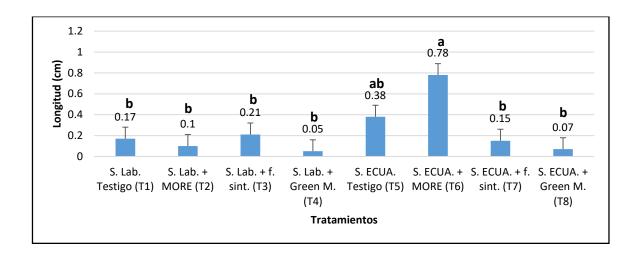


Figura 21. Longitud de hojas según los diferentes tratamientos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.4.3. Longitud de raíces en los tratamientos evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el incremento en longitud de las raíces se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre tratamientos con una p = < 0.0014 (Anexo 4).

Al evaluar la longitud de las raíces, se determinó utilizando la prueba de Tukey que el mejor tratamiento fue la interacción entre el sustrato de ECUAGENERA y MORE (T6) el cual presentó un aumento promedio en la longitud de las raíces de 2.61 cm, frente a los otros fertilizantes utilizados, siendo el menos eficaz el tratamiento 8 (S. de Ecuagenera + Green Master) con un aumento promedio de 0.11 cm (Figura 22).

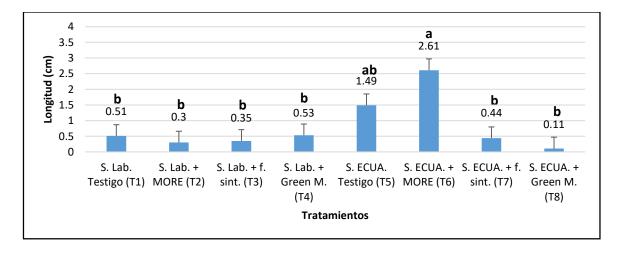


Figura 22. Longitud de raíces según los diferentes tratamientos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.4.4. Número de hojas en los tratamientos evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el numero de hojas, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre tratamientos con una p= 0.1380 (Anexo 5).

En cuanto se refiere al incremento de hojas se determinó utilizando la prueba de Tukey que el mejor tratamiento fue la interacción entre el sustrato de ECUAGENERA y Fertilizante sintético (T7), el cual presentó un aumento promedio de hojas de 1.47, frente a los otros fertilizantes utilizados, siendo el menos eficaz el tratamiento 3 (S. de Laboratorio + Fertilizante sintético) con un aumento promedio de 0.07 (Figura 23).

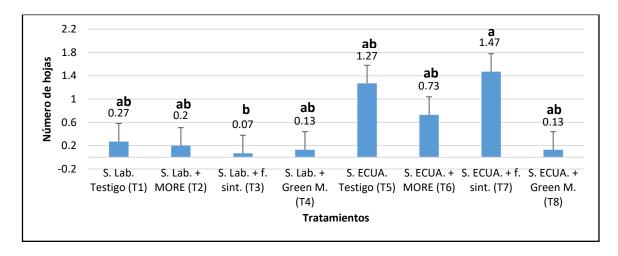


Figura 23. Número de hojas según los diferentes tratamientos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.4.5. Número de raíces en los tratamientos evaluados.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el número de raíces, se pudo determinar que los datos presentaron diferencias significativas entre tratamientos con una p= 0.1499 (Anexo 6).

En lo referente al número de raíces, se logró determinar mediante la prueba de Tukey que el mejor tratamiento fue la interacción entre el sustrato de ECUAGENERA y MORE (T6) el cual presentó un aumento promedio de 2 raíces, frente a los otros fertilizantes utilizados, siendo el menos eficaz el tratamiento 4 (S. de Laboratorio + Green Master) con un aumento promedio de 0.13 (Figura 24).

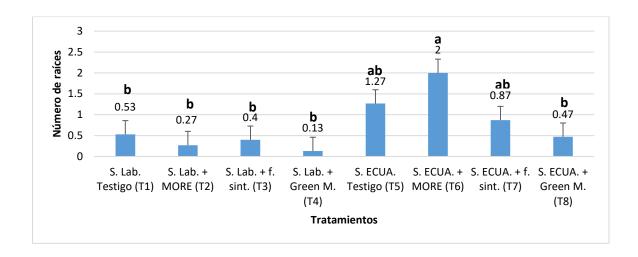


Figura 24. Número de raíces según los diferentes tratamientos, medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

#### 4.5. Difusión de la información generada

Para la difusión de la investigación y dada la importancia que representa la generación de información sobre este tema, se realizaron varias actividades para la difusión de los resultados.

En primera instancia se realizó la socialización del proyecto de tesis al equipo técnico del Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, donde se logró aportar con sugerencias y recomendaciones para futuras investigaciones. Así mismo, se realizó una exposición de la investigación a los estudiantes del quinto año de la Carrera de Ingeniería Agronómica (Figura 25; Anexo 7), con el propósito de enriquecer y fortalecer sus conocimientos técnico- científico en su formación como futuros ingenieros agrónomos. Además, se elaboró y entrego un tríptico divulgativo (Anexo 8), a estudiantes y docentes de la Carrera de Ingeniería Agronómica.

Finalmente se elaboró un artículo científico de la tesis, con la finalidad de difundir la información a aquellos actores involucrados con el campo agronómico.



Figura 25. A) y B) Difusión de Resultados de Tesis al Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Quinto Año de la Carrera de Ingeniería Agronómica. Jardín Botánico Reinaldo Espinosa- UNL. Loja - 2016

#### 5. DISCUSIÓN

#### 5.1. Evaluación de sustratos

En la evaluación de sustratos en la presente investigación se obtuvo que para la variable sobrevivencia el sustrato comercial ECUAGENERA presentó el más alto porcentaje de sobrevivencia 51.67 %, en plántulas de orquídea, lo que difiere con Hágsater y Soto (2000), quienes al evaluar la supervivencia *ex vitro* de vitroplantas de *Laelia eyermaniana* Rchb, en fibra de palma sollate obtuvieron un promedio de 46.9 % de supervivencia y un promedio de mortalidad de 21.87 % en plántulas pequeñas y 31.25 % en plántulas medianas.

Así mismo difiere con Billard, Barsanti, & Lallana (2014), quienes al estudiar la supervivencia durante la aclimatación de las vitroplantas de (*Polystachya concreta*), observaron que con sustrato elaborado de: cáscara de pino, cáscara de arroz carbonizada y perlita tuvieron una supervivencia del 0 %, y con el sustrato de: cáscara de pino, turba de Sphagnum, tierra fértil y perlita, una supervivencia del 100 %. En los sustratos comerciales, la supervivencia fue de 100 %, y las plantas en el sustrato TerraFértil® compuesto por: compost orgánico, turba de Sphagnum, acícula de pino, resaca de río y perlita manifestaron más vigor y coloración que en el TerraFértil® compuesto por: compost orgánico, turba de Sphagnum, acícula de pino, resaca de río y perlita.

Según Billard, Barsanti, & Lallana (2014), una de las principales características del sustrato comerciales es que en su composición tienen un alto contenido de materiales orgánicos estabilizados, lo cual podría estar favoreciendo el crecimiento de estas plantas que en su hábitat natural crecen sobre sustrato orgánico (hojarasca, restos vegetales) o generalmente enraizada entre musgos o líquenes sobre rocas o ramas en ambientes boscosos.

El mejor sustrato para las variables: altura de la planta, longitud de hojas, longitud de raíces, número de hojas y número de raíces, fue el sustrato comercial de ECUAGENERA, registrándose los mejores resultados en todas las variables frente al sustrato elaborado en laboratorio. Resultados que contrastan con Guato (2014), quien al realizar estudios sobre aclimatación de orquídeas logró observar que el mejor sustrato para el desarrollo de las especie *Dendrobium earsakul* y *Dendrobium sky blue* en la etapa inicial de desarrollo fue musgo importado 75 % + poliestireno 25 %, correspondiente a

(T4 y T11) respectivamente, donde se alcanzaron un mayor porcentaje de prendimiento, número de hojas y altura de plantas a los 30, 60, 120 y 180 días después del trasplante, y un excelente vigor fisiológico.

En cuanto al efecto de los sustratos para el crecimiento de las variables: altura de planta, longitud de hojas, longitud de raíces, número de hojas y número de raíces, se pudo evidenciar que existieron diferencias significativas entre tratamientos, siendo el sustrato comercial ECUAGENERA el que presento los mejores resultados con un promedio de 0.39 de altura, 0.34 cm de longitud de las hojas, 1.16 cm longitud de raíces, 0.90 número de hojas y 1.15 número de raíces, resultados que difieren con Iñiguez & Pineda (1999), quienes estudiaron el comportamiento de vitroplantas de Cattleya máxima y Catleya alba, con el uso de diferentes sustratos, obteniendo que con el uso de corteza de pino, mulch, carbón y mantillo obtuvieron los mejores resultados en cuanto a altura de planta, longitud de hojas, longitud de raíces, número de hojas y número de raíces.

Por otro lado Mendieta (2013), al estudiar la inducción al enraizamiento y aclimatación de vitroplantas de orquídeas (*Epidendrum quinquepartitum* Schltr.) con diferentes sustratos obtuvo como resultado que el sustrato de xaxim mostró ser el más efectivo en la sobrevivencia de individuos, difiriendo con los resultados obtenidos en la presente investigación. Asimismo Mendieta (2013) no recomienda el uso de la mezcla de carbón y trozos de ladrillo como sustrato para la aclimatación, debido a que el sustrato no proporciona el medio adecuado para los plantines a causa de la falta de retención de agua, que se traduce en la pérdida total de las plantas.

#### 5.2. Evaluación de fertilizantes foliares

La fertilización foliar de las vitroplantas en el invernadero demostró ser necesaria para el crecimiento de las plántulas, requiriendo de fertilizantes que ayuden a la planta a adaptarse como fue el caso de MORE y GREEN MASTER los cuales en su composición contienen macro y micro elementos como también ácidos húmicos que permiten que la planta se vuelta autótrofa una vez retirada del medio de cultivo. En el caso de las Hormonas de laboratorio se logró observar que inducen al aumento de hojas pero no al crecimiento y adaptación. Según otros autores lo único que la planta necesita es una alta humedad y riegos con agua lo cual es suficiente para su crecimiento (Barbery & Morales 2011).

Según Mendieta (2013), al estudiar la inducción al enraizamiento y aclimatación de vitroplantas de orquídeas (*Epidendrum quinquepartitum* Schltr.). En donde para determinar la aclimatación y enraizamiento *ex vitro*, se usó distintas concentraciones de ácido naftalenacético (ANA) aplicadas exógenamente, siendo así que con la aplicación de 100 mg L<sup>-1</sup> de ANA exógenamente, generó el valor más alto de sobrevivencia con un 90 %. Del mismo modo, esta combinación mostró ser la mejor en cuanto al desarrollo. Lo cual difiere con los resultados de la presente investigación, en la cual al aplicar de manera foliar las hormonas sintéticas (1.0 mg L<sup>-1</sup> de Kinetina, 0.5 mg L<sup>-1</sup> de Ácido Giberélico y 0.5 mg L<sup>-1</sup>de Ácido Indolbutírico), las plántulas reaccionaron desfavorablemente presentando marchites y menor crecimiento. Sin embargo con el uso del fertilizante comercial MORE a base de macroelementos, microelementos y ácidos húmicos, aplicando una concentración de 2 ml L<sup>-1</sup>, se logró evidenciar los mejores resultados en cuanto a las variables evaluadas.

En cuanto al uso de fertilizantes foliares a base de fitohormonas para evaluar el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de orquídeas en invernadero, no se cuenta con investigaciones similares, puesto que estos fertilizantes fueron probados por primera vez en esta investigación.

#### 6. CONCLUSIONES

- En la evaluación de los dos tipos de sustratos, se logró determinar que el sustrato comercial de ECUAGENERA fue el que presentó mejores resultados en el comportamiento, trasplante y adaptación de las plántulas de orquídea mostrando una sobrevivencia del 51.67 %.
- El fertilizante que presentó mejores resultados fue MORE, al evaluar el trasplante y adaptación de las plántulas de orquídea, mostrando los mejores resultados en todas las variables evaluadas, a excepción del incremento de número de hojas con una media de 0.47.
- El mejor tratamiento al evaluar la interacción entre sustratos más fertilizantes fue el S. ECUAGENERA + MORE, mostrando un aumento en la mayoría de variables evaluadas con promedios en: altura de 0.92 cm, longitud de las hojas 0.71 cm, longitud de raíces de 2.23 cm; y, número de raíces 1.87. En cuanto a la variable número de hojas tuvo un incremento medio de 0.6 hojas siendo superado por el S.ECUAGENERA + F. sintético; y, el S.ECUAGENERA Testigo con un incremento de 1.47 y 1.4 respectivamente, no existiendo una diferencia significativa entre los 3 tratamientos mencionados al finalizar la fase de campo que tuvo una duración de 7 meses.

#### 7. RECOMENDACIONES

- No utilizar como fertilizante foliar las hormonas sintéticas de laboratorio (KIN, AG<sub>3</sub>,
  AIB) puesto que las hojas de las plantas presentan una mala reacción a estas,
  produciendo marchites y quemadura de las hojas.
- Implementar el invernadero con equipos que permitan mantener las condiciones ambientales controladas y en valores constantes, consiguiendo de esta manera que en días demasiado calurosos no se deshidraten las plantas, o en caso de presentarse condiciones de alta humedad se produzca pudriciones.
- Inocular al sustrato con hongos micorrízicos antes de la siembra, pues ayudan a las vitroplantas a asimilar los nutrientes como lo hacen en ambientes naturales en relación de simbiosis.
- Desinfectar el musgo sphagnum utilizando métodos que permitan que se mantenga con vida y siga desarrollándose, aportando mejores características al sustrato para orquídeas.

#### 8. BIBLIOGRAFÍA

- Barbery Knaudt, R., & Morales Benavent, I. (2011). *Manual para el cultivo in vitro de la Orquídea Cattleya nobilior "Flor símbolo de Concepción"*. Santa Cruz: El País.
- Bernardos, S., & Tyteca, D. (2000). *Novedades y comentarios para la orquidoflora centro-occidental ibérica*. Badajoz: Alcaraz.
- Billard, C. E., Barsanti, M. V., & Lallana, V. H. (2014). Cultivo in vitro y aclimatación de plantas de Polystachya concreta (Orchidaceae). *FABICIB*, 18, 95-106.
- Bonifacino, M. (2012). Sistemática de plantas tropicales.
- Díaz, M. (2013). *Manual de cultivo de Orquídeas*. México: C. P. 91190, Xalapa, Veracruz, México.
- Dueñas, H., & Fernández, A. (2007). Sinopsis de la familia Spiranthoideae(Orchidaceae) en Colombia.
- EL BLOG DE LA ORQUÍDEAS. (3 de Agosto de 2005). Obtenido de http://orquidea.blogia.com/2005/080301-reproduccion-de-las-orquideas..php.
   Consultado: 13 de julio 2017
- Elicriso. (2015). Obtenido de Elicriso: http://www.elicriso.it/es/orquideas/clasificacion/.

  Consultado: 13 de julio 2017
- Esaú, K. (2003). Anatomía Vegetal. California: Omega S.A.
- ESPE. (s.f.). Obtenido de http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/1728/4/T-ESPE-026787-1.pdf. Consultado: 20 de mayo 2018
- Grout, B. (2009). Wax development on leaf surface of Brassica. *Plant Sci Lett 5:*, 401-405 p.

- Guato Jiménez, L. J. (2014). INFLUENCIA DE CUATRO TIPOS DE SUSTRATOS EN LA FASE INICIAL DE DESARROLLO DE DOS ESPECIES DE ORQUÍDEAS (Dendrobium earsakul y Dendrobium sky blue), OBTENIDAS POR CULTIVO IN VITRO. Riobamba, Ecuador.
- Hágsater, E., & Soto, A. (2000). Las orquídeas de México. Chinoín.
- Iñiguez, J., & Pineda, A. (1999). COMPORTAMIENTO DE VITROPLANTAS DE Cattleya máxima y Catleya alba, EN DIFERENTES SUSTRATOS, DESINFECTANTES Y FERTILIZANTES FOLIARES. Loja.
- León, M. (2015). Conservación de especies Peruanas de Orquídeas usando técnicas de cultivo in vitro. Tesis para optar el Titulo de Biólogo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima Perú. 46 p.
- Mateos Martín, J. A., & Durán Oliva, F. (2006). *Guía de orquídeas de Extremadura*. Badajoz: Tecnigraf, S.A.
- McKendrick, S. (2000). *Manual para la germinación in vitro de Orquídeas*. Quito: Ceiba Foundation for Tropical Conservation .
- Menchaca García, R. A. (2011). *Manual para la propagación de orquídeas*. Jalisco: Comisión Nacional Forestal.
- Mendieta Sanjinés, J. (2013). Inducción al enraizamiento y aclimatación de vitroplantas de orquídeas (Epidendrum quinquepartitum Schltr.) con distintos niveles de ácido naftalenacético a diferentes sustratos. La Paz-Bolivia: Universidad Mayoy de San Andrés.

- Ministerio de Turismo. (2014). Obtenido de Ministerio de turismo:http://www.turismo.gob.ec/oficialmente-ecuador-es-el-pais-de-las-orquideas/.Consultado: 4 de mayo 2017
- Mosquera, H. (2012). Análisis palinológico y anatómico del pistilo en la familia Orchidaceae. León.
- Noboa, P., Espejo, J., Cisternas, M., Rubio, M., & Dominguez, E. (2006). *Guía de campo de las orquídeas chilenas*. Concepción: Corporación de la Madera.
- ORQUIDEARIO PUEBLO NUEVO. (2013). Obtenido de http://www.orquideariopueblonuevo.com/articulos/sustratos-siembra-y-repoteo.Consultado: 12 de abril 2018
- Pierik, R. (1990). *Cultivo in vitro de las Plantas Superiores*. . Ediciones Mundi Prensa. Madrid España. 295p.
- Rivera, C. (2014). *Orquídeas: Generalidades y cultivo*. Heredia-Costa Rica. 266 p.: Efuna.
- Robledo, A. (2012). Las Orquideas españolas. . Quercus. 59, 4-17.
- Santos, B., & Ruiz, T. (2005). Algunas orquídeas interesantes de la provincia de Cáceres. Studia Botanica.
- Serrano Méndez, E. (2009). Guía para el cultivo y mantenimiento de Orquídeas amenazadas en Costa Rica. San José: MARIÑO.
- Sierra. (2012). Sistema de clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental.

  Obtenido de http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/LEYENDA
  ECOSISTEMAS\_ECUADOR\_2.pdf. Consultado: 16 de julio 2018

- Silva, J. (19 de junio de 2010). *EL TIEMPO*. Obtenido de EL TIEMPO: http://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-4016367. Consultado: 26 de julio 2018
- Vasquez Pinedo, J. D. (2005). ACLIMATACIÓN DE PLÁNTULAS DE Epidendrum schomburgkii (Lindl.) C.Shweinf (ORCHIDACEAE) PROPAGADAS IN VITRO.

  UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO. TARAPOTO, PERÚ.

# 9. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de datos obtenidos en el experimento utilizados para análisis estadísticos.

			increm	Increment	Incremen to	Incremen to	Incremen to
tratamiento	sustrato	fertilizante	ento altura	o longitud de hojas	longitud de raíces	número de hojas	número de raíces
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.7	0.7	0.5	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.9	0.9	0.8	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.7	0.7	0.7	0.0	1.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.9	0.9	3.2	1.0	5.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + f. sint.	Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.6	0.6	1.7	5	4.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.4	0.4	0.1	5.0	4.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.6	0.6	2.4	7.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.4	0.4	1.5	5.0	3.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + f. sint.	Sustrato de Ecuagenera	Fitohormonas	0.2	0.2	0.9	0.0	2.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Continúa Anexo 1...

...Continuación Anexo 1

S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.3	0.3	1.5	2.0	2.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.5	0.5	2.0	1.0	1.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.7	0.7	1.0	0.0	1.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + MORE	Sustrato de laboratorio	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.5	0.5	1.4	2.0	2.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	1.8	0.5	2.1	0.0	7.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.2	0.2	0.4	0.0	0.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.3	0.3	0.3	0.0	1.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	1.7	1.7	4.7	2.0	3.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.2	0.2	4.5	2.0	3.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	2.4	2.4	6.8	2.0	4.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	2.5	2.5	5.4	1.0	3.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	1.9	0.0	9	1.0	3.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	0.6	0.6	1.8	1.0	0.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	1.1	1.1	0.3	0.0	1.0
S. ECUA.+ MORE	Sustrato de Ecuagenera	MORE	1.7	1.7	2.4	0.0	3.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.2	0.2	2.5	0.0	2.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.3	0.2	3.8	2.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.4	0.4	1.7	0.0	0.0
S. lab. + Green M.	Sustrato de laboratorio	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Continúa Anexo 1

...Continuación Anexo 1

S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.3	0.3	0.7	0.0	1.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.3	0.3	0.2	0.0	4.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.4	0.4	0.7	2.0	2.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. ECUA. + Green M.	Sustrato de Ecuagenera	Green Master	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.3	0.3	1.5	0.0	4.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.6	0.3	1.2	3.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.7	1.9	4.9	1.0	4.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S. Lab. Testigo	Sustrato de laboratorio	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.6	0.6	2.8	1.0	2.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	1.5	1.5	2.2	6.0	2.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.3	0.3	3.4	0.0	1.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.5	0.5	0.2	2.0	1.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.2	0.2	0.2	0.0	1.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.2	0.7	3.3	2.0	1.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.3	0.2	0.4	3.0	0.0

Continúa Anexo 1...

#### ...Continuación Anexo 1

S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.3	0.7	3.0	2.0	3.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.4	0.0	4.7	2.0	3.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.6	0.6	0.2	1.0	2.0
S.ECUA testigo	Sustrato de Ecuagenera	testigo	0.4	0.4	1.9	0.0	3.0

Anexo 2. Análisis estadístico para el incremento de altura.

	Anál	isis de la vari	anza		
VARIABLE	N	$\mathbb{R}^2$	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Incremento de altura	120	0,36	0.32	159.29	
F.V.	SC	Gl	CM	F	P-valor
Modelo	10.32	7	1.47	8.93	< 0.0001
Sustrato	2.19	1	2.19	13.25*	0.0004
Fertilizante	3.84	3	1.28	7.76*	0.0001
Sustrato * Fertilizante	4.29	3	1.43	8.66 *	< 0.0001
Error	18.48	112	0.17		
Total	28.80	119			
	Test: Tukey	alfa=0.05 d	ms=0.14694		
Error:0.1650	gl: 112				
Sustrato	Medias	n		EE	
Comercial de Ecuagenera	0.39	60		0.05 a	
Sustrato de laboratorio	0.12	60		0.05 b	
	Test: Tukey	alfa=0.05 d	ms=0.27353		
Error:0.1650	gl: 112				
Fertilizante	Medias	n		EE	
MORE	0.55	30		0.07 a	
Testigo	0.23	30		0.07 b	
Fitohormonas	0.18	30		0.07 b	
Green Master	0.06	30		0.07 b	
	Test: Tukey	/ alfa=0,05 d	ms=0,45818	•	
Error:0.1650	gl: 112				
Sustrato	Fertilizante	Medias	n	EE	
Comercial de Ecuagenera	MORE	0.99	15	0.10 a	
Comercial de Ecuagenera	Testigo	0.35	15	0.10 b	
Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.21	15	0.10 b	
Comercial de Ecuagenera	Fitohormonas	0.15	15	0.10 b	
Sustrato de laboratorio	Testigo	0.11	15	0.10 b	
Sustrato de laboratorio	MORE	0.10	15	0.10 b	
Comercial de Ecuagenera	Green Master	0.07	15	0.10 b	
Sustrato de laboratorio	Green Master	0.06	15	0.10 b	
Medias con una letra común	no son significativa	amente diferer	tes (p > 0.05)	)	

Anexo 3. Análisis estadístico para el incremento de la longitud de hojas.

	Anális	is de la varia	nza		
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Incremento longitud de hojas	120	0.23	0.18	179.36	
F.V.	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	6.16	7	0.88	4.81	0.0001
Sustrato	1.32	1	1.32	7.24*	0.0082
Fertilizante	2.31	3	0.77	4.22*	0.0072
Sustrato * Fertilizante	2.52	3	0.84	4.60*	0.0045
Error	20.47	112	0.18		-
Total	26.62	119		-	
	Test: Tukey	alfa=0.05 dm	s=0.14694		
Error:0.1827	gl: 112				
Sustrato	Medias	n		EE	
Comercial de Ecuagenera	0.34	60		0.06 a	
Sustrato de laboratorio	0.13 60 0.06 b				
	Test: Tukey	alfa=0,05 dm	ns=0,27353	•	
Error:0,1827	gl: 112				
Fertilizante	Medias	n		EE	
MORE	0.44	30		0.08 a	
Testigo	0.27	30		0.08 a b	
Fitohormonas	0.18	30		0.08 a b	
Green Master	0.06	30		0.08 b	
	Test: Tukey	alfa=0.05 dm	s=0.48218	·	
Error: 0.1827	gl: 112				
Sustrato	Fertilizante	Medias	n	EE	
Comercial de Ecuagenera	MORE	0.78	15	0.11 a	
Comercial de Ecuagenera	Testigo	0.38	15	0.11 ab	
Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.21	15	0.11 b	
Sustrato de laboratorio	Testigo	0.17	15	0.11 b	
Comercial de Ecuagenera	Fitohormonas	0.15	15	0.11 b	
Sustrato de laboratorio	MORE	0.10	15	0.11 b	
Comercial de Ecuagenera	Green Master	0.07	15	0.11 b	
Sustrato de laboratorio	Green Master	0.05	15	0.11 b	
Medias con una letra común no	son significativam	ente diferente	s (p > 0.05)		

Anexo 4. Análisis estadístico para el incremento de la longitud de raíces.

	Anális	is de la variai	nza		
VARIABLE	N	$\mathbb{R}^2$	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Incremento longitud de raíces	120	0.25	0.21	176.43	
F.V.	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	74.37	7	10.62	5.46	< 0.0001
Sustrato	16.35	1	16.35	8.40 *	0.0045
Fertilizante	25.83	3	8.61	4.42 *	0.0056
Sustrato * Fertilizante	32.18	3	10.73	5.51*	0.0014
Error	218.03	112	1.95		-
Total	292.40	119		•	
	Test: Tukey a	alfa=0.05 dm	s=0.50473		
Error: 1.9467	gl: 112				
Sustrato	Medias	n		EE	
Comercial de Ecuagenera	1.16	60		0.18 a	
Sustrato de laboratorio	0.42	60		0.18 b	
	Test: Tukey a	alfa=0,05 dm	s=0,93954	<u> </u>	
Error:1.9467	gl: 112				
Fertilizante	Medias	n		EE	
MORE	1.45	30		0.25 a	
Testigo	1.00	30		0.25 a b	
Fitohormonas	0.39	30		0.25 b	
Green Master	0.32	30		0.25 b	
	Test: Tukey a	alfa=0.05 dm	s=1.57377		
Error:1.9467	gl: 112				
Sustrato	Fertilizante	Medias	n	EE	
Comercial de Ecuagenera	MORE	2.61	15	0.36 a	
Comercial de Ecuagenera	Testigo	1.49	15	0.36 a b	
Sustrato de laboratorio	Green Master	0.53	15	0.36 b	
Sustrato de laboratorio	Testigo	0.51	15	0.36 b	
Comercial de Ecuagenera	Fitohormonas	0.44	15	0.36 b	
Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.35	15	0.36 b	
Sustrato de laboratorio	MORE	0.30	15	0.36 b	
Comercial de Ecuagenera	Green Master	0.11	15	0.36 b	
Medias con una letra común no	son significativame	ente diferentes	(p > 0.05)		

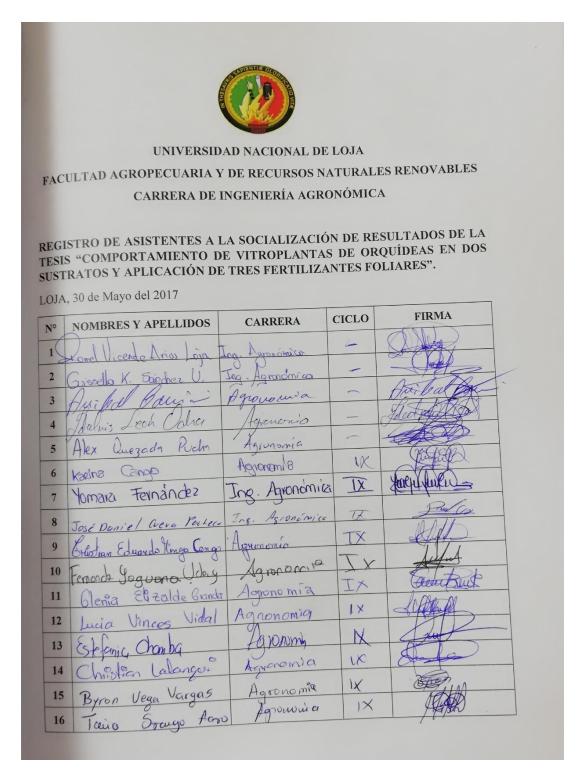
Anexo 5. Análisis estadístico para el incremento de número de hojas.

	Anális	sis de la varia	nza			
VARIABLE	N	$\mathbb{R}^2$	R <sup>2</sup> Aj	CV		
Incremento número de hojas	120	0,17	0,11	226,43		
F.V.	SC	gl	CM	F	P-valor	
Modelo	32.53	7	4.65	3.19	0.0041	
Sustrato	16.13	1	16.13	11.06*	0.0012	
Fertilizante	8.20	3	2.73	1.87 <b>ns</b>	0.1380	
Sustrato * Fertilizante	8.20	3	2.73	1.87 <b>ns</b>	0.1380	
Error	163.33	112	1.46			
Total	195.87	119				
	Test: Tukey	alfa=0,05 dn	ns=0,43685			
Error: 1,4583	gl: 112					
Sustrato	Medias	n		EE		
Comercial de Ecuagenera	0.90	60		0.16 a		
Sustrato de laboratorio	0.17	60 0.16 b				
	Test: Tukey	alfa=0.05 dm	ns=0.81319	•		
Error:1,4583	gl: 112					
Fertilizante	Medias	n		EE		
Testigo	0.77	30		0.22 a		
Fitohormonas	0.77	30		0.22 a	0.22 a	
MORE	0.47	30		0.22 a		
Green Master	0.13	30		0.22 a		
	Test: Tukey	alfa=0.05 dm	ns=1.36213			
Error:1.4583	gl: 112					
Sustrato	Fertilizante	Medias	n	EE		
Comercial de Ecuagenera	Fitohormonas	1.47	15	0.31 a		
Comercial de Ecuagenera	Testigo	1.27	15	0.31 a b		
Comercial de Ecuagenera	MORE	0.73	15	0.31 a b		
Sustrato de laboratorio	Testigo	0.27	15	0.31 a b		
Sustrato de laboratorio	MORE	0.20	15	0.31 a b		
Comercial de Ecuagenera	Green Master	0.13	15	0.31 a b		
Sustrato de laboratorio	Green Master	0.13	15	0.31 a b		
Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.07	15	0.31 b		
Medias con una letra común no	son significativam	ente diferente	s (p > 0.05)			

Anexo 6. Análisis estadístico para el incremento de número de raíces.

	Anális	sis de la varia	nza		
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Incremento número de raíces	120	0.18	0.13	173.94	
F.V.	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	40.59	7	5.80	3.48	0.0020
Sustrato	20.01	1	20.01	12.02*	0.0007
Fertilizante	11.56	3	3.85	2.31 <b>ns</b>	0.0797
Sustrato * Fertilizante	9.02	3	3.01	1.81 <b>ns</b>	0.1499
Error	186.40	112	1.66		
Total	226.99	119		•	
	Test: Tukey	alfa=0.05 dm	s=0.43685		
Error: 1.6643	gl: 112				
Sustrato	Medias	n		EE	
Comercial de Ecuagenera	1.15	60		0.17 a	
Sustrato de laboratorio	0.33	60 0.17 b			
	Test: Tukey	alfa=0.05 dm	s=0.81319		
Error:1.4583	gl: 112				
Fertilizante	Medias	n		EE	
MORE	1.13	30		0.24 a	
Testigo	0.90	30		0.24 a	
Fitohormonas	0.63	30		0.24 a	
Green Master	0.30	30		0.24 a	
	Test: Tukey	alfa=0.05 dm	s=1.36213		
Error:1.6643	gl: 112				
Sustrato	Fertilizante	Medias	n	EE	
Comercial de Ecuagenera	MORE	2.00	15	0.33 a	
Comercial de Ecuagenera	Testigo	1.27	15	0.33 a b	
Comercial de Ecuagenera	Fitohormonas	0.87	15	0.33 a b	
Sustrato de laboratorio	Testigo	0.53	15	0.33 b	
Comercial de Ecuagenera	Green Master	0.47	15	0.33 b	
Sustrato de laboratorio	Fitohormonas	0.40	15	0.33 b	
Sustrato de laboratorio	MORE	0.27	15	0.33 b	
Sustrato de laboratorio	Green Master	0.13	15	0.33 b	
Medias con una letra común no	son significativam	ente diferente	s (p > 0.05)		

Anexo 7. Difusión de los Resultados de la Investigación a los Actores Involucrados, Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Quinto Año de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.



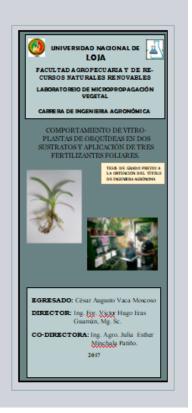
				N
17	Jusan Espeja	Saronomia	1×	Luson Espera
18	Richard augodo Vero	Agronomia	eX	And A
19	Robert Mediato Marin	Agwrómie	100	(Janos)
20	D.	Agranomia	1X	
21	•	U		a de
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
31				
32				
33				
34				
35				
35				
37				
38				
39				
40				

#### Anexo 8. Tríptico divulgativo del presente trabajo de Investigación.



#### CONCLUSIONES

- El mejor sustrato evaluado es el connecial de ECUAGENERA en el comportamiento, insoplante y adoptación de las visroplanta de Coquides mostrando una sobrevivencia del 5167 % fiente al sustrato de laboratorio un un 2167%, y, registratose los mejores resultados en todas las variables evaluatas.
- El mejor festilizante evaluardo el comporta-miento, trasplante y adaptación de las vitro-plantas de Osquidea es MORE, mostrardo los mejores resultados en vidros las variables evaluadas, a excepción del incremento de número de hojas con una media de 0.47,sieralo superado por el fertilizante a base de homoraes sintéticas y el testigo, ambos con un valor medio del 0.77, sin hiber diferencia significativa entre estas.



#### INTRODUCCIÓN

Las orquideas son plantas en su mayoria epiditas que tienen ura amplia distribución, especialmente en zonas tropicales como es la amazonia Ecustoriana, así mismo se encuentran ura amplia variedad de otas que se hanadaptado a condiciones de la repión andira y se las cultiva principalmente por la belleza de sus flores; por lo cual nalizamos estudios sobre aclimatación de plantas obtenidas mediante técnicas in vitro de especies de orquideas epifitas, en el cual se evaluaron dos tipos de sutratos y tres diferentes fertilizantes foliares, debido a la mortalidad que las plantas de esta familia presentan al momento de realizar la siembra al sustrato definitivo, produciendo pérdidas de material de

de los aspectos que menos se toma en cuenta al momento de cultivar orquideas sin percatamos que constituye la base fundamental para el establecimiento y cucimiento de nuestra planta, el medio de fijación que la sutentará por unos cuantos años. Play que tener en mente que sin un buen medio de cultivo, no obtendremos plantas turas, faertes y bien desarrolladas. ("OR QUIDE ARI O PUEBL O NUE VO,")

La finalidad de la investigación es cuar una metodología en la fase de aclimatación de las vitro plantas de orquideas lo cual permita aumentar la sobrevivencia de las plantas en condiciones ambientales de especies que se

#### OBJETIVOS

Contribuir a la genención de información que permita determinar la adaptación de Orquideas mediante la utilización de 2 sustratos y 3 finilizarios filians bajo condicionis de invernadoro en la provincia de Liga.

Probar dos tipos de sustratos y evaluar el compotamiento en el trasplante y adaptación de las vitroplantas de Qualda en inver-nadoro.

#### METODOLOGÍA

- Preparación y distrifección del sustrato de lab
- Selección del material portroplamico (vitroplantas).

- Usdo
- nico Reinaldo Espinosa.

