

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Evaluación de sustratos orgánicos en la aclimatización de una orquídea híbrida

(*Phalaenopsis violácea* y *Phalaenopsis amboinensis*) desarrolladas in vitro.

AUTORES:

Blg. Jenyfer Joyce Elizalde Jaramillo

Blg. Ruth Dalila Salazar Mera

DIRECTOR:

MSc. María Fernanda Garces Moncayo

Milagro, 2024

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro
Presente.

Yo, **Jenyfer Joyce Elizalde Jaramillo** y **Ruth Dalila Salazar Mera**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación **Biotecnología vegetal** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 30 de octubre del 2024



Firmado electrónicamente por:
JENYFER JOYCE
ELIZALDE JARAMILLO

Jenyfer Joyce Elizalde Jaramillo

C.I.: 2101136949



Firmado electrónicamente por:
RUTH DALILA
SALAZAR MERA

Ruth Dalila Salazar Mera

C.I.: 2100887609

Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **María Fernanda Garcés Moncayo**, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Jenyfer Joyce Elizalde Jaramillo y Ruth Dalila Salazar Mera**, cuyo tema es **Evaluación de sustratos orgánicos en la aclimatización de una orquídea híbrida (*Phalaenopsis violácea* y *Phalaenopsis amboinensis*) desarrolladas in vitro**, que aporta a la Línea de Investigación **Biotecnología vegetal**, previo a la obtención del Grado **Magister en biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 30 de octubre del 2024



Firmado electrónicamente por
MARIA FERNANDA
GARCES MONCAYO

MSc. María Fernanda Garcés Moncayo

C.I.: 1803571577

Certificación de la defensa



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO FACULTAD DE POSGRADO CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **ELIZALDE JARAMILLO JENYFER JOYCE**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "EVALUACIÓN DE SUSTRATOS ORGÁNICOS EN LA ACLIMATIZACIÓN DE UNA ORQUÍDEA HÍBRIDA (PHALAENOPSIS VIOLÁCEA Y PHALAENOPSIS AMBOINENSIS) DESARROLLADAS IN VITRO.", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	59.00
SUSTENTACIÓN	37.08
PROMEDIO	96.08
EQUIVALENTE	Excelente



CHRISTIAN MIGUEL
VILLAVICENCIO YANOS

Mgs VILLAVICENCIO YANOS CHRISTIAN MIGUEL
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



JOSE HUMBERTO VERA
RODRIGUEZ

Msc. VERA RODRIGUEZ JOSE HUMBERTO
VOCAL



CESAR STALIN GAVIN
MOYANO

Mgs GAVIN MOYANO CESAR STALIN
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **BIOL. SALAZAR MERA RUTH DALILA**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "EVALUACIÓN DE SUSTRATOS ORGÁNICOS EN LA ACLIMATIZACIÓN DE UNA ORQUÍDEA HÍBRIDA (PHALAENOPSIS VIOLÁCEA Y PHALAENOPSIS AMBOINENSIS) DESARROLLADAS IN VITRO.", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	59.00
SUSTENTACIÓN	37.33
PROMEDIO	96.33
EQUIVALENTE	Excelente



firmado electrónicamente por:
**CHRISTIAN MIGUEL
VILLAVICENCIO YANOS**

Mgs VILLAVICENCIO YANOS CHRISTIAN MIGUEL
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



firmado electrónicamente por:
**JOSE HUMBERTO VERA
RODRIGUEZ**

Msc. VERA RODRIGUEZ JOSE HUMBERTO
VOCAL



firmado electrónicamente por:
**CESAR STALIN GAVIN
MOYANO**

Mgs GAVIN MOYANO CESAR STALIN
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis abuelos, quienes han sido el pilar fundamental de mi vida, por su amor y apoyo incondicional, y por enseñarme que con perseverancia se puede lograr todo. A mi enamorado, por estar a mi lado siempre, por su paciencia, su comprensión y por creer en mí cuando más lo necesitaba. Y a mí mismo, por cada esfuerzo, sacrificio y obstáculo superado. Este logro refleja nuestra dedicación y constancia.

Blg. Jenyfer Joyce Elizalde Jaramillo

Dedico este trabajo a mis padres Julio y Ruth, cuya fortaleza, amor incondicional y apoyo han sido la fuente de mi inspiración y motivación. Este logro es tanto suyo como mío.

Blg. Ruth Dalila Salazar Mera.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a mi tutora, por su valiosa guía y apoyo durante todo el proceso de investigación. Su orientación y experiencia han sido fundamentales para el desarrollo de esta tesis. A mis familiares, por su amor, comprensión y paciencia incondicionales durante esta etapa. A mis colegas y compañera de tesis, por su constante apoyo y sus ideas enriquecedoras, que han sido fundamentales para el avance de este proyecto.

Gracias a todos por su contribución y apoyo

Blg. Jenyfer Joyce Elizalde Jaramillo

Agradezco a mi tutora MSc. María Fernanda Garces Moncayo por su valiosa orientación, paciencia y apoyo continuo durante todo este proceso. Su dedicación y experiencia fueron cruciales para el desarrollo de este trabajo. Asimismo, quisiera agradecer a mi compañera de tesis Jenyfer Elizalde cuya colaboración, dedicación y amistad hicieron esta experiencia aún más enriquecedora y motivadora.

Blg. Ruth Dalila Salazar Mera.

Resumen

La presente investigación tiene como objetivo principal evaluar el impacto de diferentes mezclas de sustratos orgánicos en la aclimatización y desarrollo de plántulas de una orquídea híbrida (*Phalaenopsis violácea* y *Phalaenopsis amboinensis*) desarrolladas in vitro. Este estudio es fundamental, ya que la aclimatización es un paso crítico en la producción de orquídeas, determinando la capacidad de las plantas para adaptarse a condiciones ex vitro. La investigación se llevó a cabo en un vivero casero en la provincia de Sucumbíos. La metodología aplicada adoptó un enfoque experimental y cuantitativo con un diseño experimental completamente al azar, evaluando ocho tratamientos que consistieron en cuatro tipos de sustratos orgánicos y dos métodos de riego, con cinco réplicas por tratamiento con una duración de dos meses. Se prepararon mezclas de sustratos que incluían fibra de coco, perlita, musgo sphagnum, corteza de pino, carbón, humus y turba. Durante el proceso de aclimatización, se monitoreó las condiciones ambientales, manteniendo una temperatura de 26°C y con una humedad relativa de 77.85%, y se registraron datos sobre la tasa de supervivencia, crecimiento en altura, número de hojas y desarrollo radicular de las plántulas. Los resultados mostraron que las plántulas cultivadas en sustratos orgánicos como en el tratamiento 1 (Fibra de coco 60% + perlita 10% + turba 30%) presentaron porcentajes de supervivencia significativamente altos a diferencia de los tratamientos 2, 3 y 4. La investigación concluyó que el uso de sustratos orgánicos es una estrategia efectiva para mejorar la aclimatización de plántulas de orquídeas, beneficiando tanto a los productores como al ecosistema. Se recomienda llevar a cabo estudios adicionales que evalúen el impacto de sustratos orgánicos alternativos, como la fibra de plátano, el compost o mezclas innovadoras que incluyan residuos agrícolas. Estos hallazgos no solo enriquecen el conocimiento sobre la aclimatización de orquídeas, sino que también ofrecen un modelo replicable para prácticas más sostenibles, contribuyendo a la preservación de la biodiversidad y al desarrollo económico de la industria orquideológica.

Palabras clave: Aclimatización, Sustratos orgánicos, Variables ambientales,

Phalaenopsis spp.

Abstract

The main objective of this research is to evaluate the impact of different mixtures of organic substrates on the acclimatization and development of hybrid orchid seedlings (*Phalaenopsis violácea* and *Phalaenopsis amboinensis*) developed in vitro. This study is fundamental, since acclimatization is a critical step in orchid production, determining the capacity of plants to adapt to ex vitro conditions. The research was carried out in a home nursery in the province of Sucumbíos. The applied methodology adopted an experimental and quantitative approach with a completely randomized experimental design, evaluating eight treatments consisting of four types of organic substrates and two irrigation methods, with five replications per treatment lasting two months. Substrate mixtures were prepared that included coconut fiber, perlite, sphagnum moss, pine bark, charcoal, humus and peat. During the acclimatization process, environmental conditions were monitored, maintaining a temperature of 26°C and a relative humidity of 77.85%, and data on the survival rate, height growth, number of leaves, and root development of the seedlings were recorded. The results showed that seedlings grown in organic substrates such as in treatment 1 (Coconut fiber 60% + perlite 10% + peat 30%) presented significantly high survival rates compared to treatments 2, 3, and 4. The research concluded that the use of organic substrates is an effective strategy to improve the acclimatization of orchid seedlings, benefiting both producers and the ecosystem. Additional studies are recommended to evaluate the impact of alternative organic substrates, such as banana fiber, compost, or innovative mixtures that include agricultural residues. These findings not only enrich knowledge about orchid acclimatization, but also offer a replicable model for more sustainable practices, contributing to the preservation of biodiversity and the economic development of the orchid industry.

Keywords: Acclimatization, Organic substrates, Environmental variables, *Phalaenopsis* spp.

Lista de Figuras

Figura 1 <i>Variable Tamaño de Hojas en Tipo de Tratamiento</i>	38
Figura 2 <i>Variable de Longitud de Raíz en Tipo de Tratamiento</i>	40
Figura 3 <i>Variable de Altura en Tipo de Tratamiento</i>	41
Figura 4 <i>Variable Total de Hojas en Tipo de Tratamiento</i>	43
Figura 5 <i>Variable Tamaño de Hojas en Tipo de Riego</i>	44
Figura 6 <i>Variable de Longitud de Raíz en Tipo de Riego</i>	45
Figura 7 <i>Variable de Altura en Tipo de Riego</i>	46
Figura 8 <i>Variable Total de Hojas en Tipo de Riego</i>	47

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Operacionalización de Variable Independiente</i>	8
Tabla 2 <i>Operacionalización de Variable Dependiente</i>	9
Tabla 3 <i>Taxonomía de Phalaenopsis</i>	21
Tabla 4 <i>Diseño de los tratamientos</i>	29
Tabla 5 <i>Análisis para Tamaño de Hojas en Diferentes Tratamientos</i>	38
Tabla 6 <i>Análisis para Tamaño de Raíz en Diferentes Tratamientos</i>	39
Tabla 7 <i>Análisis para Altura en Diferentes Tratamientos</i>	41
Tabla 8 <i>Análisis para Total de Hojas en Diferentes Tratamientos</i>	42
Tabla 9 <i>Variables Ambientales</i>	48
Tabla 10 <i>Variables Ambientales y Variables de Crecimiento</i>	49
Tabla 11 <i>Porcentajes de Supervivencia bajo Diferentes Tratamientos ex vitro</i>	51

Índice / Sumario

Derechos de Autor	i
Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación	ii
Certificación de la defensa.....	iii
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
Introducción	1
CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación.....	4
1.1 Planteamiento del problema	4
1.2 Delimitación del problema.....	4
1.3 Formulación del problema	5
1.4 Preguntas de investigación	5
1.5 Objetivos.....	6
1.5.1 Objetivo general	6
1.5.2 Objetivos específicos	6
1.6 Hipótesis.....	6
1.7 Justificación	6
1.8 Declaración de las variables (Operacionalización).....	8
CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial.....	10
2.1 Antecedentes.....	11
Investigaciones en Ecuador.....	12
Investigaciones Internacionales.....	14
2.2 Contenido teórico que fundamenta el estudio	16
2.2.1 Aclimatización	16
2.2.1.1 Aclimatización de vitro plántulas.....	16
2.2.2 Condiciones in vitro a ex vitro:.....	17
2.2.3 Micropropagación in vitro	19
2.2.4 Factores ambientales.....	19
2.2.5 Descripción de <i>Phalaenopsis</i> spp	20
2.2.6 Sustratos orgánicos.....	22
2.2.6.1 Sustratos orgánicos en la aclimatización	22
2.2.6.2 Características físicas.....	22
2.2.6.3 Características químicas.....	23
2.2.6.4 Características biológicas	23
2.2.7 Variedades de sustratos para el cultivo.....	23

2.2.8	<i>Phalaenopsis</i> spp y su cultivo in vitro.....	25
2.2.9	Características de cultivo in vitro en orquídeas.....	26
2.2.10	Medios de Cultivo.....	27
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico.....		28
3.1	Tipo y diseño de investigación.....	28
3.1.1	Diseño experimental:.....	28
3.2	La población y la muestra.....	30
3.3	Población.....	30
3.4	Muestra.....	30
3.5	Los métodos y las técnicas.....	30
3.5.1	Se prepararon cuatro mezclas de sustratos:.....	31
3.5.2	Extracción de las plántulas del medio in vitro.....	31
3.5.3	Preparación del sustrato para el trasplante.....	32
3.5.4	Trasplante de las plántulas.....	32
3.5.5	Aclimatación de las plántulas.....	32
3.5.6	Protocolo de construcción del invernadero.....	33
3.5.7	Parámetros de control:.....	34
3.6	Procesamiento estadístico de la información.....	35
CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados.....		36
4.1	Análisis e interpretación de resultados.....	36
4.2	Discusión.....	51
CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones.....		56
5.1	Conclusiones.....	56
5.2	Recomendaciones.....	57
Bibliografía.....		59
ANEXOS.....		67

Introducción

Las orquídeas, conocidas por su belleza y elegancia, son plantas con una historia de aproximadamente 65 millones de años. Pertenecen a la familia Orchidaceae, caracterizada por su diversidad y capacidad de adaptabilidad (Kull et al., 2009). Su origen es en el sudeste asiático; las *Phalaenopsis* son principalmente epífitas, aunque algunas especies son litófitas. Presentan un crecimiento monopodial con hojas persistentes o caducas, las cuales varían en color desde un verde sólido hasta un verde con matices plateados y envés rojizo. La floración lateral es notable por su atractivo visual y durabilidad; las convierte en una opción preferida para coleccionistas y cultivadores (Sedano et al., 2015).

Este género ha sido ampliamente utilizado en hibridación para producir variedades con flores de gran tamaño, que pueden exceder los 12 cm de diámetro. Disponibles en una amplia gama de colores, excepto el azul, sus flores incluyen tonalidades como blanco, rosa, amarillo, rojo y moteado. Las floraciones estrelladas, derivadas de cruces con especies como *Phalaenopsis violácea* y *Phalaenopsis amboinensis*, han aumentado su popularidad en el cultivo doméstico debido a su facilidad de propagación y floración en condiciones controladas (Pérez y Castañeda, 2016).

El término *Phalaenopsis* proviene de las palabras griegas “phalaina” (polilla) y “opsis” (aparición), y comúnmente se las denomina “orquídeas polilla”. Estas plantas poseen una morfología floral única y atractiva, con inflorescencias que pueden contener múltiples flores con una larga duración. Estas características han posicionado a *Phalaenopsis* como el género más exitoso y popular dentro de las Orchidaceae en el mercado de flores

ornamentales (Hsu et al., 2018). Estas orquídeas son una de las más destacadas en la floricultura comercial a nivel global, siendo actualmente la flor en maceta más comercializada en los principales mercados de flores del mundo (Cardoso et al., 2020).

Ecuador, con su biodiversidad y condiciones climáticas favorables, ofrece un entorno ideal para el cultivo de orquídeas, incluyendo especies endémicas de *Phalaenopsis*. La interacción de los vientos cálidos de la Amazonía y la costa con la Cordillera de los Andes crea una variedad de microclimas que generan hábitats ideales para estas plantas (Bonilla, 2019). En noviembre de 2023, Ecuador fue reconocido como "País de las Orquídeas", por resaltar su diversidad orquideológica (Aucapiña y López, 2016).

Esta familia contribuye significativamente al endemismo vegetal, con 1,707 especies que representan un tercio de las plantas endémicas del país (León et al., 2019). No obstante, la industria orquideológica enfrenta varios desafíos. La mayoría de los invernaderos operan a pequeña escala, lo que limita su capacidad para satisfacer tanto la demanda interna como la externa. Además, los productores locales dependen en gran medida de proveedores internacionales para obtener plántulas de alta calidad, lo que restringe el desarrollo independiente del sector (Cantos y Tulcán, 2012).

El cultivo in vitro es una técnica clave para la propagación y conservación de orquídeas. A pesar de los avances en esta área, la producción comercial a gran escala de especies con alto potencial sigue siendo limitada. Esto resalta la necesidad de innovaciones en biotecnología para mejorar la producción y reducir la dependencia de proveedores externos (Sedano et al., 2015). La aclimatación de vitro plántulas es fundamental en la producción de orquídeas (Nava et al., 2011). Este proceso implica una adaptación

gradual a las condiciones del ambiente externo, manejando variables como temperatura, humedad y tipo de sustrato (Vasco-Ávila, 2020).

La conservación y el desarrollo sostenible de la industria orquideológica tienen implicaciones económicas y ecológicas. El Plan Nacional de Desarrollo del Gobierno resalta la biodiversidad como una ventaja competitiva y promueve el crecimiento de industrias relacionadas con la biotecnología y el ecoturismo. La implementación de prácticas innovadoras en la producción de orquídeas podría potenciar significativamente el crecimiento económico y contribuir a la preservación de la biodiversidad en el país (Pérez y Castañeda, 2016).

Bajo este contexto, la presente investigación tiene como objetivo general evaluar el impacto de los sustratos orgánicos en la aclimatización y desarrollo de vitro plántulas de *Phalaenopsis* spp. Además, se determinaron las características ambientales a las que se exponen las orquídeas *Phalaenopsis* spp. durante dicho proceso. Finalmente, se evaluaron los porcentajes de sobrevivencia de las plántulas provenientes de cultivo in vitro en diferentes sustratos orgánicos bajo condiciones ex vitro.

CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1 Planteamiento del problema

La aclimatización de plántulas de orquídeas *Phalaenopsis* spp., cultivadas in vitro, es un proceso fundamental que presenta diversas dificultades. Durante este periodo, las plántulas se enfrentan a un ambiente diferente al que han estado expuestas, lo que puede provocar altas tasas de mortalidad y un crecimiento inadecuado. El tipo de sustrato utilizado en esta fase de aclimatización es un factor determinante que influye en la adaptación de las plántulas. Aunque las combinaciones de sustratos orgánicos podrían mejorar este proceso, se carece de estudios que evalúen su impacto en el desarrollo de *Phalaenopsis* spp. tras el cultivo in vitro.

1.2 Delimitación del problema

Este estudio se centrará en la fase de aclimatización de vitro plántulas de *Phalaenopsis* spp., evaluando el impacto de diferentes mezclas de sustratos orgánicos en un invernadero casero ubicado en la provincia de Sucumbíos. Aunque el entorno es más limitado en comparación con instalaciones controladas, permitirá un control meticuloso sobre las variables ambientales esenciales, como temperatura y humedad. La investigación se enfocará en evaluar cómo diferentes combinaciones de sustratos orgánicos afectan la aclimatización y desarrollo de vitro plantas que tienen un año y cuatro meses de edad. Los sustratos para evaluar incluirán fibra de coco, corteza de pino, perlita, carbón, humus, musgos Sphagnum y turba. El seguimiento del proceso de aclimatización abarca un período de dos meses, iniciando el 22 de julio de 2024, y se centrará en medir la tasa de supervivencia, el crecimiento (en términos de altura,

desarrollo radicular y del tallo) y la calidad general de las plántulas, considerando factores como el número de hojas. Quedan excluidos del estudio los sustratos inorgánicos, otras especies de orquídeas diferentes a *Phalaenopsis* spp., y las etapas anteriores al cultivo in vitro.

1.3 Formulación del problema

La aclimatización de plántulas de *Phalaenopsis* spp., que han sido cultivadas in vitro, representa una fase desafiante en su desarrollo, como tasas de supervivencia reducidas y un crecimiento lento al ser transferidas a condiciones ex vitro. Este proceso es esencial para la producción exitosa de orquídeas, pero la falta de datos precisos sobre cómo diversas mezclas de sustratos orgánicos aportan esta transición limita la capacidad de optimizar las prácticas de cultivo. La ausencia de información no permite mejorar la eficiencia en el uso de recursos y aumentar la calidad del cultivo. Investigar los efectos de distintos sustratos orgánicos en la aclimatización de las plántulas optimiza las técnicas de aclimatización y mejora la viabilidad y sostenibilidad de la producción de orquídeas *Phalaenopsis*.

1.4 Preguntas de investigación

- ¿Cómo influye el sustrato durante la aclimatización de plántulas de *Phalaenopsis* spp para garantizar su éxito y supervivencia?
- ¿Qué diferencias se pueden observar en el crecimiento a largo plazo de las orquídeas cultivadas en condiciones ex vitro en distintos tipos de sustratos?
- ¿Cuáles son las características ambientales que permiten una mejor aclimatación de las orquídeas?

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar el impacto de sustratos orgánicos en la aclimatización y desarrollo de vitro plántulas híbridas de orquídeas *Phalaenopsis* spp.

1.5.2 Objetivos específicos

- Analizar el desarrollo de plántulas híbridas de orquídeas (*Phalaenopsis* spp.) durante el proceso de aclimatación mediante la utilización de distintas mezclas de sustratos orgánicos.
- Identificar las características ambientales a las que se exponen las orquídeas híbridas (*Phalaenopsis* spp) durante el proceso de aclimatación.
- Determinar los porcentajes de sobrevivencia de plántulas provenientes de cultivo in vitro en mezclas de distintos sustratos orgánicos en condiciones ex vitro.

1.6 Hipótesis

Las vitro plántulas de *Phalaenopsis* spp. logran aclimatarse de manera exitosa en distintas mezclas de sustratos orgánicos (fibra de coco, corteza de pino, perlita, carbón, humus, musgos sphagnum y turba) a diferencia de los sustratos comerciales normalmente usados.

1.7 Justificación

La aclimatización de vitro plántulas es un paso crucial en la producción de orquídeas, ya que determina la capacidad de las plantas para adaptarse a condiciones ex vitro. La

elección de sustratos orgánicos adecuados desempeña un papel fundamental en este proceso, ya que afecta directamente la supervivencia y el crecimiento de estas. Este estudio busca identificar los sustratos orgánicos más eficaces para optimizar la aclimatación de *Phalaenopsis* spp. mejorando así la eficiencia y sostenibilidad de la producción de orquídeas en entornos controlados.

Además de su relevancia económica, esta investigación tiene importantes implicaciones para la conservación de la biodiversidad. Al mejorar la aclimatación, se reduce la necesidad de extraer orquídeas de su entorno natural, lo que ayuda a preservar las especies en sus hábitats. El estudio también proporciona un entendimiento más profundo de las interacciones planta-sustrato, con potenciales aplicaciones en otras variedades de orquídeas. Al promover el uso de sustratos orgánicos sostenibles, se fomenta la adopción de prácticas agrícolas respetuosas con el medio ambiente, beneficiando a los productores como al ecosistema.

1.8 Declaración de las variables (Operacionalización)

Tabla 1

Operacionalización de Variable Independiente

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Categorías/Tratamientos
Sustratos Orgánicos	Son materiales de origen natural que se utilizan como medio de cultivo para las plantas.	Diferentes mezclas de sustratos orgánicos utilizadas en el experimento para aclimatar las plántulas de orquídeas.	T1 y T2: Fibra de coco + perlita + turba + en inmersión de agua o con riego directo. T3 y T4: musgo <i>sphagnum</i> + corteza de pino + turba + en inmersión de agua o con riego directo. T5 y T6: Compost comercial + cáscara de pino + perlita + carbón + en inmersión de agua o con riego directo T7 y T8: Control (turba) en inmersión de agua o con riego directo

Tabla 2

Operacionalización de Variable Dependiente

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores/Métodos de medición
Desarrollo de Plántulas	Crecimiento y progreso de las plántulas de orquídeas durante la aclimatación.	Evaluación del crecimiento físico de las plántulas durante el proceso de aclimatación.	<ul style="list-style-type: none">• Altura de la planta: medida en centímetros (cm)• Número de hojas: conteo manual• Longitud de las raíces: medida en centímetros (cm)
Porcentaje de Supervivencia	Proporción de plántulas que sobreviven al proceso de aclimatación.	Cálculo del porcentaje de plántulas vivas después de un período determinado de 2 meses en cada tipo de sustrato orgánico.	<ul style="list-style-type: none">• Porcentaje de supervivencia

CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

Las orquídeas son epífitas caracterizadas por requerimientos nutricionales y ambientales muy específicos (Arditi y Krikorian, 1996). Durante la micropropagación in vitro, las plántulas de orquídeas se cultivan en medios de agar que les proporcionan los nutrientes y las condiciones controladas necesarias para su crecimiento (Salazar y Cancino, 2012). Sin embargo, durante la aclimatación, cuando las plántulas se transfieren a sustratos y ambientes ex vitro, enfrentan un estrés significativo que puede afectar su supervivencia y desarrollo (Hazarika, 2003). Diversos estudios han evaluado el uso de diferentes sustratos orgánicos, como la turba, la fibra de coco y el compost, para mejorar la adaptabilidad de las orquídeas cultivadas in vitro (Kull et al., 2009; Solís et al., 2022). La utilización de estos sustratos no solo mejora la retención de humedad y el suministro de nutrientes para las plántulas, sino que también facilita el desarrollo de las raíces, lo que resulta en mayores tasas de supervivencia y crecimiento durante el proceso de aclimatación (Hazarika, 2003; Suzuki et al., 2009).

Pedraza (2017) destacó en su investigación la efectividad de sustratos de turba y fibra de coco en el proceso de aclimatación de plántulas de *Phalaenopsis*. Los resultados revelaron que la incorporación de estos materiales orgánicos condujo a una mejora notable tanto en la tasa de supervivencia como en el crecimiento de las plantas, superando el rendimiento del sustrato de corteza de pino convencional. En esta investigación, estudios posteriores han evidenciado un impacto positivo en la aclimatación de orquídeas *Phalaenopsis* al emplear compost derivado de residuos vegetales (Vasco Ávila, 2020; Vásquez, 2024). No obstante, a pesar de las múltiples investigaciones sobre el uso de sustratos orgánicos en la aclimatación de orquídeas,

Castañeda et al. (2023) señaló que aún es necesario realizar estudios adicionales para identificar los sustratos más adecuados para su aplicación en invernaderos con plántulas in vitro de orquídeas.

2.1 Antecedentes

La aclimatización de plántulas cultivadas in vitro es fundamental para su adaptación a condiciones naturales debido a que este proceso implica la transición gradual de las plántulas desde un ambiente controlado de laboratorio a condiciones más variables de humedad, luz y temperatura en el exterior, lo que afecta su viabilidad y desarrollo según Hazarika (2003), indicó que un manejo adecuado de estos factores es esencial para reducir el estrés y asegurar un crecimiento saludable, también destaca que controlar la humedad y la temperatura de manera precisa es crucial durante la aclimatización, ya que, una adaptación gradual a las condiciones externas minimiza el riesgo de fracaso y proporciona una base sólida para el desarrollo de las plántulas (Hazarika, 2003).

En otro enfoque, la investigación de Raveschot (2009) examinó cómo diferentes sustratos afectan la aclimatización de orquídeas. La investigación demostró que la combinación de sustratos orgánicos e inorgánicos influye en la disponibilidad de agua y nutrientes, mejorando la aireación del sistema radicular y, en consecuencia, el éxito de la aclimatización. Solís et al. (2022), reveló en su investigación la importancia de condiciones ambientales específicas, destacando que una gestión precisa de estos factores es crucial para una transición exitosa del ambiente in vitro al entorno exterior. Además, Debergh y Read (1991), destacaron que la aclimatización es un aspecto esencial en el cultivo de plántulas in vitro, ya que implica ajustar las plantas a condiciones

externas adecuadas para su crecimiento en campo o invernadero; las plántulas micropropagadas a menudo no sobreviven al cambio de un ambiente controlado a uno con mayor luminosidad, menor humedad y menos esterilidad tanto en micropropagación como en propagación convencional. Técnicas comunes incluyen la reducción gradual de la humedad y la exposición a luz con un 50% de sombra. Estas prácticas son vitales para prevenir problemas como necrosis de hojas, especialmente cuando las raíces están mal limpiadas o infectadas (Vasco-Ávila, 2020). Aunque el cultivo in vitro proporciona sacarosa y mantiene un ambiente aséptico, lo que reduce el estrés por patógenos, no prepara a las plantas para las condiciones exteriores; por eso la aclimatización es indispensable para asegurar su éxito en condiciones naturales (Hazarika, 2003).

Investigaciones en Ecuador

La investigación de Rodríguez (2012), denominada “Aclimatación de vitro plántulas de orquídea *Epidendrum ellipticum graham* en invernadero” se centró en identificar el sustrato óptimo para la aclimatación de vitro plántulas de *Epidendrum ellipticum Graham* en un invernadero. El estudio se dividió en tres fases: preparación de sustratos, pre-aclimatación, y aclimatación en invernadero.

Los sustratos (corteza de pino, chanta de banano y corteza de coco) se desinfectaron a 80 °C y se prepararon en contenedores plásticos. Durante la pre-aclimatación, que duró 14 días, las vitro plántulas fueron seleccionadas, lavadas y trasplantadas. En el invernadero, se usó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, evaluando variables como altura, número de raíces, coloración y mortalidad. El tratamiento basado en corteza de pino (T4) mostró ser el más efectivo,

destacándose por su alta significancia estadística y su viabilidad económica para el cultivo de las plantas.

Cifuentes (2023), llevó a cabo la investigación mediante la empresa Agrobiotech, que se especializa en la micropropagación a gran escala de plantas con valor económico, incluyendo la *Dionaea muscipula*, comúnmente conocida como la venus atrapamoscas. Esta investigación tuvo lugar en las instalaciones de la empresa, ubicadas en la parroquia de Tumbaco, en el cantón Quito, provincia de Pichincha. La demanda de las venus atrapamoscas ha crecido debido a su singular método de nutrición; sin embargo, hay poca información científica disponible sobre su manejo comercial, lo que supone un reto para las empresas que las cultivan.

El estudio se centró en evaluar dos tipos de sustratos principales y un drenante para mejorar la aclimatación de las vitroplantas de *Dionaea muscipula*. Se probaron combinaciones de sphagnum con piedra pómez (en proporciones de 1:0, 1:1, 2:1, 3:1) y de turba rubia con piedra pómez (en proporciones de 1:0, 1:1, 2:1, 3:1). Se evaluaron variables como el ancho del bulbo, el número y la longitud de las raíces, la longitud del peciolo, el ancho de la trampa, el número de trampas y el contenido de clorofila. Después de 75 días de experimentación, el sustrato T5 (100% turba rubia) se identificó como el más eficaz para la aclimatación de las vitroplantas de venus atrapamoscas, ya que presentó los mejores resultados en cuanto a longitud de raíz, longitud de peciolo, diámetro de trampas y contenido de clorofila.

Investigaciones Internacionales

Díaz et al. (2010) mencionan que el éxito en la aclimatación de plantas producidas por micropropagación depende crucialmente de la etapa de aclimatación. En su estudio denominado "Aclimatación de *Phalaenopsis* y *Cattleya* obtenidas por micropropagación" desarrollaron un protocolo para mejorar esta etapa en las orquídeas *Phalaenopsis* y *Cattleya*. Para *Phalaenopsis*, las plantas fueron seleccionadas a partir de protocormos cultivados en un medio de Murashige y Skoog modificado (1962) y fueron trasladadas a sustratos que incluyen musgo, viruta de algarrobo y perlita (1:1:1) en una cámara húmeda. En el caso de *Cattleya*, los protocormos se multiplicaron en medio de Knudson C (1951) y luego en MS. Las plantas regeneradas fueron implantadas en cámaras húmedas con diferentes sustratos: musgo y perlita (1:1), viruta de algarrobo y perlita (1:1), entre otros.

Los resultados indicaron que, para *Phalaenopsis*, el rango de crecimiento RII presentó el mayor crecimiento en términos de altura, con una supervivencia del 100% y una mayor producción de hojas y raíces comparado con otros rangos. Para *Cattleya*, el sustrato que mostró mejor rendimiento fue la mezcla de viruta de algarrobo y perlita (1:1), con una supervivencia del 80% y un crecimiento notable en altura en comparación con otros sustratos. En general, las plantas de ambos géneros necesitan alcanzar un crecimiento mínimo de 2 a 4 cm in vitro para adaptarse adecuadamente a las condiciones ex vitro.

Venturieri y Mendoza (2011) evaluaron la aclimatación "ex-vitro" de plántulas de *Phalaenopsis amabilis* utilizando ocho tipos de sustratos: Fibraflor® y Turba Fértil FG2® (ambos sustratos comerciales), vermiculita, cáscara de coco desmenuzada, corteza de

pino descompuesta, abono orgánico, esfagno y helecho arborescente desfibrado. El estudio también consideró la inmersión de las plántulas en una solución de Manzate 800 a una concentración de 1 g/L inmediatamente después de retirarlas de los frascos de cultivo. A los 190 días post-siembra, se evaluaron parámetros como la suma de la longitud de las dos hojas más grandes, la suma de la longitud de las tres raíces más largas, y el porcentaje de plántulas que sobrevivieron.

Los resultados indicaron que había diferencias significativas en el desempeño de los sustratos, con el sphagnum y el helecho arborescente triturado mostrando los mejores resultados en cuanto a crecimiento y supervivencia de las plántulas. Aunque la inmersión en Manzate 800 interactuó con algunos sustratos, su efecto por sí solo no fue estadísticamente significativo. En caso de no poder obtener sphagnum, que es un recurso natural de extracción, se sugiere utilizar compost orgánico, Turba Fértil FG2® o Fibriflor® junto con la aplicación de Manzate 800 para asegurar una aclimatación exitosa de *Phalaenopsis amabilis*.

Quispe (2024), detalló en su investigación, que se llevó a cabo en un invernadero ubicado en el distrito de Trujillo, provincia de La Libertad, con el objetivo de identificar el sustrato más eficaz para la aclimatación de vitroplantas de *Anthurium andraeanum*. Evaluó cuatro tratamientos, incluido un control, utilizando combinaciones de tierra agrícola, cascarilla de arroz y abonos orgánicos como humus de lombriz, bokashi y compost. El diseño experimental fue completamente al azar, con seis repeticiones por tratamiento. Las variables analizadas incluyeron la altura de las plantas, el peso fresco, el número de hojas y el porcentaje de supervivencia de las vitroplantas.

El tratamiento T1, compuesto por un 25% de tierra agrícola, 25% de cascarilla de arroz y 50% de humus de lombriz, demostró ser el más efectivo, mostrando diferencias significativas en la altura de la planta (5.09 cm) y en el peso fresco (1.74 g) comparado con otros tratamientos. El análisis estadístico, utilizando análisis de varianza con un nivel de confianza del 99% y la prueba de Tukey al 1% de significancia, confirmó que el tratamiento T1 es el más adecuado para la aclimatación de vitroplantas de *Anthurium andraeanum* en condiciones de invernadero.

2.2 Contenido teórico que fundamenta el estudio

2.2.1 Aclimatización

La aclimatación, también conocida como endurecimiento, representa la fase final en el proceso de micropropagación. Durante esta etapa, es crucial optimizar las condiciones cuidadosamente para asegurar la supervivencia y el establecimiento exitoso de las plantas cultivadas in vitro. La transición de un entorno controlado in vitro a un ambiente más variable ex vitro ejerce una gran presión sobre las plantas micropropagadas, convirtiéndose en una etapa desafiante en muchos procesos de micropropagación (Hiti et al., 2018).

2.2.1.1 Aclimatización de vitro plántulas

La aclimatación de plántulas provenientes de cultivos in vitro es una fase crítica en el proceso de micropropagación y es esencial para asegurar el éxito del trasplante. Según Rodríguez et al. (2021), manifestó en su investigación que esta etapa es crucial, ya que las plantas deben adaptarse a las condiciones ex vitro después de haber crecido en un entorno altamente controlado y estéril.

2.2.2 Condiciones in vitro a ex vitro:

Las plántulas cultivadas in vitro se desarrollan en condiciones de alta humedad relativa, con estomas no funcionales y sin pelos radiculares ni cera en la cutícula, lo que las hace vulnerables a la deshidratación y a los cambios bruscos de humedad al ser trasladadas a un entorno natural. Sin embargo, para minimizar el choque por estrés hídrico, es fundamental aclimatar gradualmente a las plántulas. Esto se logra colocándolas inicialmente en contenedores con cobertura plástica para mantener un microambiente húmedo y, posteriormente, retirando dicha cobertura de manera progresiva (Rodríguez et al, 2021).

Protección contra patógenos: Otro desafío significativo es la exposición a patógenos como hongos y bacterias, ya que las plántulas están acostumbradas a crecer en condiciones estériles. Para mitigar este riesgo, se recomienda tratar las plántulas con soluciones fungicidas y bactericidas antes de su transferencia y asegurarse de que el sustrato esté adecuadamente esterilizado (Rodríguez et al., 2021).

Adaptación y suministro de nutrientes: Además, las plántulas in vitro han estado recibiendo un suministro constante de agua y nutrientes. Es fundamental garantizar que estas condiciones continúen tras el trasplante, asegurando un sustrato con pH óptimo y buen drenaje, compuesto por mezclas como arena, turba y cáscara de arroz quemado para facilitar un rápido desarrollo radicular (Rodríguez et al., 2021).

Proceso de aclimatación gradual: Durante la aclimatación, es crucial reducir progresivamente la humedad relativa e incrementar la intensidad de luz. Al inicio, los plantines se dejan tapados y se destapan gradualmente, comenzando con períodos

cortos de exposición diaria y aumentando hasta dejarlas destapadas completamente al cabo de un mes, siempre controlando el crecimiento de nuevas hojas como indicativo de adaptación exitosa (Rodríguez et al., 2021).

Estrategias para el éxito: El éxito de la aclimatización depende del conocimiento de las condiciones ambientales óptimas para la especie vegetal en cuestión. Implementar las estrategias adecuadas, como el uso de sustratos adecuados y el monitoreo constante de las condiciones de humedad y luz, es clave para facilitar la transición de las plántulas de un entorno in vitro a uno ex vitro y garantizar una alta tasa de supervivencia (Rodríguez et al., 2021).

A lo largo de los años, Castillo (2004) desarrolló en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) protocolos para diversas especies, incorporando técnicas de micropropagación que permiten obtener material vegetal de calidad superior. Este enfoque ha sido implementado con éxito en especies como papa, frutilla y arándanos, mejorando la disponibilidad de plantas con características genéticas y de sanidad óptimas. Programas como AR-VITRO® en Uruguay han demostrado la eficacia de la micropropagación in vitro para satisfacer la demanda de plantas de calidad en el sector hortícola y frutícola, contribuyendo así al desarrollo sostenible del sector agropecuario (Castillo, 2004).

2.2.3 Micropropagación in vitro

Es un método biotecnológico de clonación asexual de plantas mediante técnicas de cultivo in vitro. Este proceso permite la producción de plantas genéticamente homogéneas, vigorosas y libres de plagas y enfermedades al cultivar tejidos vegetales en un medio nutritivo bajo condiciones controladas y asépticas (Bello y Spinoso, 2022; Ramírez et al., 2020).

2.2.4 Factores ambientales

La aclimatación de orquídeas del género *Phalaenopsis* requiere una gestión meticulosa de factores ambientales fundamentales para su desarrollo y floración. Estos factores, que incluyen temperatura, humedad relativa, luz, viento, lluvia y fotoperiodo, son determinantes en las distintas etapas del crecimiento de las orquídeas, desde la fase inicial de aclimatación de las vitroplantas hasta su floración completa (Cortez, 2013).

Estos conceptos son fundamentales para el estudio, ya que facilitan la comprensión y la gestión de los factores cruciales que influyen en la transición de las orquídeas *Phalaenopsis* desde un entorno in vitro a uno ex vitro, asegurando así su adaptación exitosa y un cultivo eficaz.

El control preciso de las condiciones ambientales durante la aclimatación es crucial para el desarrollo adecuado de las plántulas para asegurar un crecimiento óptimo.

Luz: Las plántulas de *Phalaenopsis* necesitan una adaptación gradual a la luz solar directa para evitar el estrés. Díaz (2018) señaló que una intensidad luminosa adecuada y una longitud de onda correcta son esenciales para el funcionamiento eficiente de los

reguladores de crecimiento y la tasa fotosintética de las plantas. En el cultivo in vitro, es importante ajustar el flujo de fotones, la distribución espectral y el ciclo de iluminación (fotoperiodo y oscuridad) para optimizar el crecimiento. Generalmente, se utilizan lámparas fluorescentes o LED con ciclos controlados de luz y oscuridad para este propósito (Pacheco, 2023; Wu, 2024).

Humedad: Las orquídeas requieren niveles elevados de humedad ambiental para crecer de manera óptima. Es recomendable colocar recipientes con agua cerca de las plantas y rociarlas frecuentemente con agua de lluvia para mantener la humedad adecuada. Sin embargo, si la humedad es insuficiente, las plantas pueden marchitarse y su crecimiento se verá afectado. Por el contrario, un exceso de humedad puede fomentar el crecimiento de microorganismos patógenos, lo cual podría dañar las plántulas (Pacheco, 2023).

Temperatura: El desarrollo óptimo de las orquídeas *Phalaenopsis* requiere mantener una diferencia de temperatura de aproximadamente 10°C entre el día y la noche. El control cuidadoso de las condiciones térmicas es esencial para evitar el estrés térmico, ya que las temperaturas moderadas favorecen el crecimiento y la floración de las plántulas (Pacheco, 2023).

2.2.5 Descripción de *Phalaenopsis* spp.

Estas orquídeas se caracterizan por su crecimiento monopodial, lo que significa que crecen a partir de un solo tallo principal del cual emergen nuevas hojas en el ápice. Entre estas hojas, se desarrolla el tallo floral. Estas plantas tienen raíces aéreas y, en caso de daño en el meristemo apical, pueden generar brotes laterales que les permiten continuar creciendo. Este género crece principalmente de manera epífita, adherido a troncos de

árboles, o como litófitas, sobre rocas cubiertas de musgo. Debido a la exposición al aire, sus raíces pueden secarse rápidamente, por lo que han evolucionado para desarrollar un velamen, una estructura esponjosa que mejora la absorción de agua (Gámez, 2020).

Las hojas de las *Phalaenopsis* son robustas y suculentas, con formas que varían entre elípticas, oblongas y lanceoladas. Se disponen de manera alterna y compacta; el tamaño y color de las hojas dependen de las especies. Las flores surgen de las axilas de las hojas y pueden presentarse en inflorescencias simples o ramificadas, que pueden ser erectas, horizontales o pendulares. La cantidad de flores varía según la especie, y el periodo de floración puede prolongarse entre dos y cinco meses (Gámez, 2020).

Tabla 3

Taxonomía de Phalaenopsis

Reino	Plantae
División	Magnoliopsida
Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Orden	Asparagales
Familia	Orchidaceae
Género	<i>Phalaenopsis</i>

Fuente: (Trópicos, 2024)

2.2.6 Sustratos orgánicos

Son materiales de origen natural que se utilizan como medio de cultivo para las plantas y, por lo general, requieren un proceso de compostaje para ser adecuados para su uso. Este proceso ayuda a descomponer y estabilizar los materiales, mejorando su capacidad para retener agua y nutrientes. Algunos ejemplos de sustratos orgánicos incluyen cáscaras de arroz, pajas de cereales, fibra de coco, cortezas de árboles, aserrín, virutas de madera, etc. (Jiménez, 2024).

2.2.6.1 Sustratos orgánicos en la aclimatización

Los sustratos para cultivo de plantas son materiales que proporcionan soporte, oxígeno y agua, necesarios para el desarrollo saludable de las plantas. Además, pueden aportar nutrientes esenciales. Estos sustratos pueden ser simples o combinaciones de varios materiales y se colocan en contenedores diseñados para optimizar el crecimiento de las plantas (Cruz et al., 2012).

2.2.6.2 Características físicas

Las características físicas de los sustratos, como la densidad aparente y la capacidad de retención de agua, son esenciales para su uso y manejo agronómico. La densidad aparente, que mide la masa por unidad de volumen, influye en la comercialización y manejo del sustrato. La capacidad de retención de agua es clave para gestionar el riego en los cultivos (Burés, 2002).

2.2.6.3 Características químicas

Las propiedades químicas y fisicoquímicas de los sustratos están condicionadas por su composición elemental y la forma en que estos elementos interactúan con el entorno. Entre las principales propiedades químicas se encuentran la capacidad de intercambio catiónico, el pH, la capacidad tampón, el contenido de sales (incluyendo salinidad, conductividad eléctrica y presión osmótica), y la concentración de nutrientes disponibles o solubles en la solución del sustrato (Burés, 2002).

2.2.6.4 Características biológicas

Las características biológicas de los sustratos están principalmente determinadas por la presencia de materia orgánica. Entre las principales propiedades biológicas de los sustratos se encuentran: supresividad, actividad reguladora del crecimiento, actividad enzimática, micorrizas (Burés, 2002).

2.2.7 Variedades de sustratos para el cultivo

La selección del sustrato adecuado es crucial para el cultivo exitoso de la orquídea *Phalaenopsis*. Un buen sustrato debe ser capaz de retener la humedad necesaria y proporcionar la porosidad suficiente para garantizar un drenaje eficiente del exceso de agua, evitando así el encharcamiento, que es la principal causa de pudrición de las raíces. También, es fundamental que los sustratos tengan una textura ligera y una densidad baja o intermedia para promover el crecimiento saludable de las raíces (Cortez, 2013).

2.2.7.1 Fibra de coco

Con su baja densidad y limitada capacidad de retención de agua, resulta adecuada para todas las etapas de cultivo de las orquídeas, incluyendo aclimatación, desarrollo y floración. Se recomienda lavarla y remojarla previamente para eliminar sales y taninos que podrían perjudicar las raíces (Cortez, 2013).

2.2.7.2 Corteza de pino

Este sustrato es adecuado para la fase de floración, debido a su alta densidad y baja capacidad de retención de agua que proporcionan un soporte robusto a las plantas. Para optimizar su rendimiento, se recomienda mezclarla con corteza de coco y carbón (Cortez, 2013).

2.2.7.3 Perlita

También conocida como piedra pómez, presenta una retención de agua moderada y una buena porosidad, lo que la hace adecuada para su uso en las fases de aclimatación y desarrollo cuando se combina con otros sustratos (Cortez, 2013).

2.2.7.4 Carbón

El carbón vegetal es conocido por su excelente drenaje y baja capacidad de retención de humedad, lo que lo convierte en una opción ideal durante la fase de floración de las orquídeas. No obstante, para su aplicación en el cultivo de orquídeas, es necesario combinarlo con otros sustratos como musgo y perlita, ya que por sí solo no retiene suficiente agua, lo que puede resultar en un desperdicio de fertilizantes (Cortez, 2013).

2.2.7.5 Turba

Es un material orgánico que, a pesar de tener un bajo contenido de nutrientes, es ampliamente utilizado en la producción de plantas hortícolas debido a sus propiedades físicas (López, 2018a).

2.2.7.6 Humus

Es ampliamente valorado como uno de los fertilizantes orgánicos más eficaces, y tiene la ventaja de poder ser almacenado por períodos prolongados sin que pierda sus propiedades (López, 2018a).

2.2.7.7 Sphagnum

Es el sustrato más empleado para la aclimatación de plantas cultivadas in vitro debido a su alta capacidad de retención de agua, que alcanza entre el 85% y el 90%, y su textura esponjosa, que protege el sistema radicular de las plántulas (Macedo et al., 2014).

2.2.8 *Phalaenopsis* spp y su cultivo in vitro

El cultivo in vitro ha transformado la propagación y conservación de las orquídeas, permitiendo avances significativos en la producción masiva y la preservación de estas plantas exóticas. Esta técnica posibilita el cultivo de orquídeas a partir de pequeños tejidos en un entorno controlado, lo cual es esencial para especies que enfrentan dificultades de reproducción en condiciones naturales (Salazar et al., 2013; Salgado y Peñaranda, 2019).

2.2.9 Características de cultivo in vitro en orquídeas.

Arditi y Krikorian (1996) fueron pioneros en describir metodologías de cultivo in vitro para diversas especies de orquídeas. Utilizaron medios de cultivo como MS (Murashige y Skoog), KC (Knudson C) y VW (Vacin y Went), complementados con suplementos orgánicos naturales como agua de coco y pulpa de plátano, que han demostrado mejorar el desarrollo de las orquídeas en cultivo (Chacón et al., 2021; Pacheco, 2023; Yrigoin, 2024).

Phalaenopsis, una orquídea epífita originaria del sureste asiático, India, Indonesia y Australia, se distingue por su crecimiento monopodial y sus flores de variados colores y tamaños. Estas orquídeas son muy valoradas en la industria ornamental. Sin embargo, su propagación natural es desafiante y lenta, debido a la dependencia de una relación simbiótica con hongos micorrízicos en su entorno natural, lo que dificulta su multiplicación vegetal y reproducción sexual (Chacón et al., 2021; Murguía et al., 2016; Silva et al., 2016).

La propagación clonal in vitro ha permitido superar los desafíos asociados con la multiplicación de *Phalaenopsis*. Tirado et al. (2005) destacaron la eficacia de la formación de embriones somáticos a partir de callos y la creación de cuerpos similares a protocormos (PLBs) a partir de diversos tejidos, como hojas, ápices radicales, ápices de vástagos y secciones de ejes florales. Los PLBs, descritos como estructuras intermedias entre un embrión cigótico y un vástago, han demostrado ser especialmente efectivos cuando se multiplican mediante sistemas de inmersión temporal, como el sistema RITA. Además, Chugh et al. (2009), proporcionaron una revisión exhaustiva

sobre los avances en la micropropagación de orquídeas. El uso de diversos tipos de explantes, incluidos segmentos nodales, botones florales y raíces, para la micropropagación adecuada del tipo de explante es crucial para mejorar las tasas de éxito en la regeneración de plantas, lo que pone de relieve la importancia de adaptar los métodos de cultivo in vitro a cada especie de orquídea.

2.2.10 Medios de Cultivo

El cultivo in vitro de *Phalaenopsis* requiere un medio adecuado e incorporar bioestimulantes y reguladores de crecimiento para tener resultados óptimos. Los medios como VW, MS y KC, junto con componentes orgánicos como la pasta de keiki, han demostrado mejorar la germinación y desarrollo (Arditi y Krikorian, 1996; Arditi y Pridgeon, 2013; Kull et al., 2009). Además, la aplicación de auxinas y citoquininas estimula el crecimiento vegetativo y radicular, lo que incrementa la eficacia en los métodos de propagación de la especie (Aucapiña y López, 2016; Donha et al., 2019).

CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

3.1 Tipo y diseño de investigación

La investigación es de tipo experimental, cuantitativa, porque se basa en la recolección y análisis de datos numéricos para evaluar el impacto de diferentes sustratos y métodos de hidratación en el desarrollo de plántulas de una orquídea híbrida (*Phalaenopsis violácea x amboinensis*). Se miden variables objetivas, como el crecimiento, condiciones ambientales, utilizando datos precisos para facilitar una comparación estadística entre los tratamientos. Este enfoque permite obtener resultados claros y cuantificables sobre cuál sustrato y método de riego son más efectivos.

3.1.1 Diseño experimental:

El presente estudio se llevó a cabo en un vivero casero, ubicado en la provincia de Sucumbíos, durante un período de dos meses de aclimatización ex vitro de plántulas de una orquídea híbrida (*Phalaenopsis violácea* y *Phalaenopsis amboinensis*). Se monitorearon las condiciones ambientales, específicamente la temperatura y humedad relativa, con el objetivo de evaluar su influencia en la supervivencia y desarrollo de las plántulas durante el proceso de aclimatización.

Se realizó un diseño experimental completamente al azar donde se evaluaron 8 tratamientos, con 4 tipos diferentes de sustratos, 2 tipos de riego y 5 réplicas por tratamiento (Tabla N.4), en total se usaron 40 plántulas de orquídeas (*Phalaenopsis* spp.) que se encontraban en cultivo in vitro y tenían una edad de 1 año y 4 meses; Los datos recopilados fueron registrados en una bitácora para su posterior análisis.

En los semilleros, las plántulas fueron sumergidas en agua potable para quitar restos del medio de cultivo de sus raíces antes del trasplante y se aplicó riego por inmersión, manteniendo el sustrato constantemente húmedo y riego directo.

Tabla 4

Diseño de los tratamientos

Tratamiento	Descripción de sustrato	Tipo de riego	Réplicas
1	Fibra de coco 60% + perlita 10% + turba 30%	Riego por inmersión	5
2	Fibra de coco 60% + perlita 10% + turba 30%	Riego directo	5
3	Musgo sphagnum 20% + corteza de pino 70% + turba 10%	Riego por inmersión	5
4	Musgo sphagnum 20% + corteza de pino 70% + turba 10%	Riego directo	5
5	Compost comercial 80% + corteza de pino 10% + perlita 5% + carbón 5%	Riego por inmersión	5
6	Compost comercial 80% + corteza de pino 10% + perlita 5% + carbón 5%	Riego directo	5
7	Turba control 100%	Riego por inmersión	5

3.2 La población y la muestra

3.3 Población

La población de estudio está compuesta por plántulas de una orquídea híbrida (*Phalaenopsis violácea* x *amboinensis*) cultivadas in vitro en medio “Phytotech Phalaenopsis Replate Medium”, mantenidas en condiciones controladas en un laboratorio especializado en biotecnología vegetal. Se seleccionaron plántulas que han completado el ciclo de cultivo inicial al año y cuatro meses y están listas para ser trasladadas a condiciones de aclimatación ex vitro.

3.4 Muestra

Para el estudio, se seleccionaron 40 plántulas de una población mantenida en cultivo in vitro, elegidas aleatoriamente para asegurar la representatividad. Cada plántula fue seleccionada por su tamaño, que debe ser de mínimo 2.5 cm y tener desarrollo adecuado (tallo firme, color de hojas verde intenso, buen desarrollo radicular y un mínimo de 2 a 3 hojas) para el proceso de aclimatación. El tamaño de la muestra se determinó en función de la capacidad del entorno de aclimatación y los objetivos del estudio, permitiendo una evaluación efectiva de las condiciones experimentales.

3.5 Los métodos y las técnicas

Para elaborar los siguientes protocolos se basó en métodos y técnicas que orientaron la selección de materiales y la implementación del proceso de aclimatación en el

invernadero propuestas por (Menchaca, 2011; Miceli et al., 2013; Roca & Mroginski, 1991; Rodríguez et al., 2021; Castillo (2004).

Se realizaron los siguientes pasos:

3.5.1 Se prepararon cuatro mezclas de sustratos:

La primera mezcla contenía 60% de fibra de coco, 10% de perlita y 30% de turba. La segunda mezcla contenía 20% de musgo Sphagnum, 70% de corteza de pino y 10% de turba. La tercera mezcla contenía 80% de compost comercial, 10% de corteza de pino, 5% de perlita y 5% de carbón. La cuarta mezcla era un sustrato control de 100% de turba. Antes de realizar las mezclas, se desinfectó el sustrato en general con agua al vapor; una vez desinfectado, se procedió a pesar cada componente en una balanza digital (SF-400) para asegurar que las proporciones fueran iguales en todas las mezclas. Finalmente, se mezclaron los componentes de cada sustrato de manera homogénea.

Preparación del área de trabajo:

Se desinfectó el área de trabajo y el material a utilizar (pinzas, recipientes (almacigueras, regla, tarrina, etc.) mediante exposición al vapor de agua durante 10 minutos. Se tuvieron listos los sustratos preparados para el trasplante.

3.5.2 Extracción de las plántulas del medio in vitro

El proceso de extracción de las plantas del medio in vitro se realizó de manera cuidadosa para garantizar la integridad de las plántulas. Se abrió cuidadosamente el frasco o recipiente que contenía las plántulas, utilizando pinzas estériles. Se extrajo una plántula

a la vez, asegurándose de no dañar las raíces. Se inspeccionó visualmente cada plántula, verificando que las raíces, tallos y hojas estuvieran sanos y bien desarrollados.

Lavado de las raíces

Una vez extraídas las plántulas, se procedió a lavar sus raíces para eliminar cualquier resto del medio de cultivo in vitro. Cada plántula se sumergió suavemente en un recipiente con agua de llave a temperatura ambiente. Se movió delicadamente la plántula en el agua para facilitar el lavado de las raíces, asegurando así la eliminación completa de residuos.

3.5.3 Preparación del sustrato para el trasplante

Para el trasplante, se preparó un sustrato humedecido previamente. Se aseguró que el sustrato tuviera una textura suelta y esponjosa para facilitar el enraizamiento. Esto es crucial para el éxito del trasplante y el crecimiento saludable de las plántulas.

3.5.4 Trasplante de las plántulas

Se colocó una porción del sustrato humedecido en las almacigueras destinadas para el trasplante. Se realizó un pequeño orificio en el sustrato, donde se ubicó cuidadosamente cada plántula, asegurándose de no dañar las raíces. Se cubrieron las raíces con el sustrato, presionando ligeramente para asegurar un buen contacto y promover el enraizamiento.

3.5.5 Aclimatación de las plántulas

Las plántulas trasplantadas se colocaron en un vivero diseñado para simular condiciones de poca luz, temperatura y humedad adecuadas. Se llevaron a cabo riegos periódicos para mantener el sustrato ligeramente húmedo, evitando encharcamientos que pudieran

perjudicar el desarrollo de las plántulas. El crecimiento y desarrollo de las plántulas se monitoreó de manera constante durante el proceso de aclimatación.

3.5.6 Protocolo de construcción del invernadero

La construcción del invernadero se llevó a cabo con el objetivo de proporcionar un ambiente controlado para las plántulas trasplantadas. La estructura incluyó los siguientes componentes:

Polisombra

Se utilizó una polisombra de dimensiones 1 m de ancho por 1.20 m de largo para cubrir la parte superior y los laterales del invernadero. Esta proporcionó sombra y protección a las plantas, regulando la cantidad de luz solar que reciben.

Plástico para invernadero

El plástico para invernadero, con dimensiones de 1.46 m de ancho por 1.28 m de largo, se empleó para cubrir los lados, la parte trasera y frontal del invernadero. Este material permitió la creación de un ambiente controlado y protegido para las plántulas.

Estructura de soporte

Las varillas se utilizaron para formar un armazón rígido que soportara la estructura del invernadero. Se seleccionó un espacio adecuado para la ubicación del invernadero, considerando factores como la exposición solar, ventilación y accesibilidad. El área de trabajo se limpió y niveló antes de la instalación de las varillas en posición vertical, formando un armazón de 1.28 m de largo por 1.25 m de ancho. La estabilidad de la estructura se aseguró utilizando elementos de fijación como alambres y cabos.

Colocación de la cubierta

El plástico para invernadero se extendió sobre la estructura, cubriendo los lados y la parte frontal. Se fijó a la estructura mediante grapas y tachuelas, asegurando un ajuste adecuado.

Instalación de la polisombra

La polisombra se colocó sobre la parte superior de la estructura del invernadero y se aseguró con elementos de fijación como grapas para mantener su posición. Se realizó una revisión exhaustiva de la estructura del invernadero, asegurándose de que todas las conexiones y fijaciones estuvieran en su lugar. Se realizaron los ajustes necesarios para garantizar la estabilidad y el correcto funcionamiento del invernadero.

3.5.7 Parámetros de control:

Humedad relativa y temperatura: 3 tomas diarias a distintas horas (8am, 11am y 8pm), utilizando un termohigrómetro digital marca HTC-1

Parámetros de respuesta:

Porcentaje de supervivencia: se evaluó al final de los 2 meses del proceso de aclimatación, mediante el cálculo de las plantas que iniciaron la fase experimental y las que no sobrevivieron.

Altura de la planta: se evaluó cada 5 días, mediante el uso de una regla graduada y se midió en cm.

Longitud de las raíces: se midieron antes del trasplante al sustrato y al finalizar los 2 meses del proceso de aclimatación.

Número de hojas: se evaluó el número de hojas al inicio del proceso de aclimatación y al finalizar luego de 2 meses.

Tamaño de las hojas: se seleccionaron las hojas nuevas de la planta y se midió su crecimiento cada 5 días.

3.6 Procesamiento estadístico de la información

Se realizó el análisis estadístico de los datos mediante la utilización del software especializado IBM SPSS Statistics versión 25 y R Studio, en el cual se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey al 95% de confianza para determinar el mejor tratamiento en el que se da un adecuado desarrollo durante el proceso de aclimatación de plántulas de orquídeas híbridas (*Phalaenopsis violácea x amboinensis*).

CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1 Análisis e interpretación de resultados

Para evaluar el crecimiento de *Phalaenopsis* spp. durante su etapa de aclimatización, se registraron diversas variables relacionadas con el desarrollo de las plántulas, incluyendo altura, longitud de la raíz, tamaño de las hojas y número total de hojas. Estos parámetros fueron esenciales para evaluar el crecimiento y desarrollo de las plántulas en respuesta a sustratos orgánicos. El estudio se llevó a cabo durante 2 meses y se incluyeron parámetros de control como la temperatura y la humedad relativa; mediante el uso de un higrómetro digital se registraron estos parámetros dentro del vivero donde se realizó el proceso de aclimatización. Esto permitió capturar las variaciones térmicas diarias y su posible impacto en el desarrollo de las plántulas. Los datos recolectados fueron analizados utilizando el software R-studio y Spss versión 25.

Para el análisis de resultados se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor para comparar el crecimiento promedio de las plántulas entre los distintos tratamientos de sustratos evaluados ((T1) Fibra de coco + perlita + turba (2) musgo sphagnum + corteza de pino + turba (3) Compost comercial + cáscara de pino + perlita + carbón (4) Control (turba)). Para visualizar, las variables de crecimiento son las siguientes: altura, longitud de raíz, tamaño de hojas y número de hojas. Además, se aplicó la prueba de Tukey para identificar cuáles de los tratamientos de sustrato mostraban diferencias significativas entre sí en cuanto al desarrollo de las plántulas, también para ver cómo influyó el método de riego con el desarrollo de las plántulas dentro de este estudio. Asimismo, se llevó a cabo un análisis de correlación de Pearson generalizada entre las

variables ambientales y las variables de crecimiento de las plántulas. Se observó también la supervivencia, permitiendo una comprensión más amplia de cómo estas variables influyen en los resultados de supervivencia. El nivel de significancia se estableció en $p < 0.05$ para todas las pruebas estadísticas.

Impacto de los diferentes tipos de sustratos en las variables de crecimiento de *Phalaenopsis* spp.

En el presente estudio, se evaluó el tamaño de hojas en respuesta a cuatro tratamientos diferentes (T1, T2, T3 y T4). Los resultados del análisis de Tukey indican que los tratamientos T3 y T4 tienen un efecto significativamente negativo en el crecimiento de las orquídeas en comparación con el tratamiento T1. Específicamente, la diferencia promedio entre T3 y T1 es de -1.545 ($p = 0.0059743$), lo que sugiere que las orquídeas crecen menos en T3. Asimismo, la comparación entre T4 y T1 muestra una diferencia de -2.217 ($p = 0.0000682$), indicando un impacto aún más considerable de T4 en el crecimiento. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas entre T2 y T1 ($p = 0.0776903$) ni entre T4 y T2 ($p = 0.0645287$), lo que sugiere que estos sustratos no afectan el crecimiento de manera diferente como lo indica la (Tabla 5).

La gráfica de boxplot complementa esta información al mostrar que el tratamiento T2 presenta el tamaño de hojas más grande, seguido por T1, mientras que T3 y T4 tienen tamaños considerablemente menores. De tal manera que resalta la variabilidad en el crecimiento, donde T2 muestra una mediana alta y un rango intercuartílico amplio, sugiriendo un crecimiento sano. En contraste, T3 y T4 tienen cajas más bajas, reflejando un crecimiento limitado como se aprecia en la (Figura1).

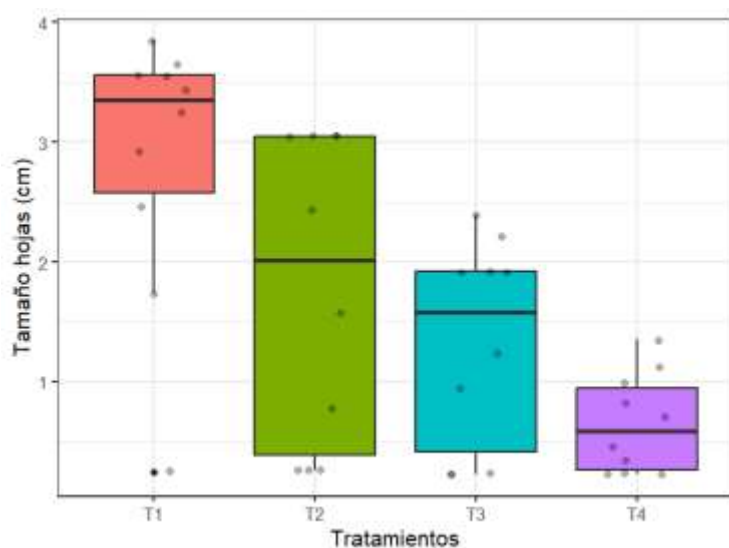
Tabla 5

Análisis para Tamaño de Hojas en Diferentes Tratamientos

POST - HOC TUKEY				
§SUSTRATO				
	diff	lwr	upr	p adj
T2-T1	-1.090	-2.266381	0.08638136	0.0776903
T3-T1	-1.545	-2.721381	-0.36861864	0.0059743
T4-T1	-2.217	-3.393381	-1.04061864	0.0000682
T3-T2	-0.455	-1.631381	0.72138136	0.7263454
T4-T2	-1.127	-2.303381	0.04938136	0.0645287
T4-T3	-0.672	-1.848381	0.50438136	0.4258506

Figura 1

Variable Tamaño de Hojas en Tipo de Tratamiento



Los resultados de la variable de longitud de la raíz muestran que el sustrato T1 es notablemente superior, con raíces significativamente más grandes que los sustratos T2, T3 y T4. Por tanto, la diferencia promedio entre T1 y T2 es de -2.89 cm, y entre T1 y T4, de -3.65 cm, con valores p que indican que estas diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Esto sugiere que el sustrato T1 proporciona un entorno más favorable para el desarrollo radicular. En contraste, no se encontraron diferencias

significativas entre T2, T3 y T4, lo que implica que estos sustratos tienen un efecto similar en el crecimiento de las raíces como se aprecia en la (Tabla6).

La gráfica de caja muestra de manera clara las diferencias en el tamaño de raíces de las orquídeas según los diferentes tratamientos de sustrato. En ella, el tratamiento T1 resalta con un rango de tamaño de raíces que oscila entre 4 y 6 cm, evidenciando un crecimiento robusto y consistente. En contraste, el tratamiento T2 presenta un tamaño significativamente reducido, con valores que apenas alcanzan los 2 cm, lo que indica un desarrollo deficiente y los tratamientos T3 y T4, por su parte, muestran un tamaño de raíz casi nulo, como lo indica la (Figura2).

Tabla 6

Análisis para Tamaño de Raíz en Diferentes Tratamientos

POST – HOC TUKEY

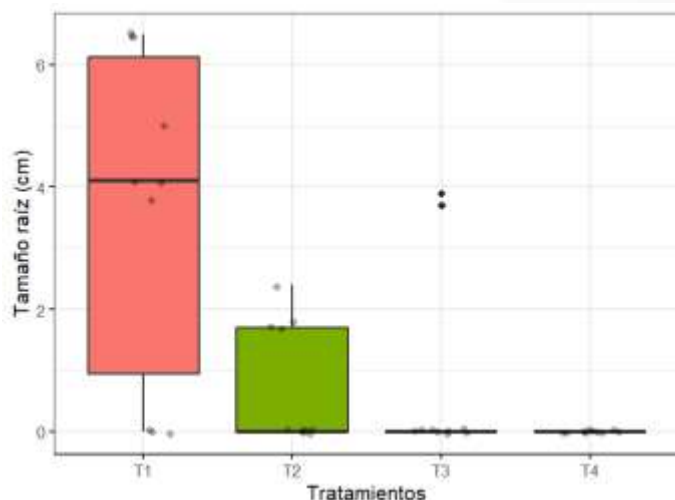
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = T_RAIZ ~ SUSTRATO, data = orquideas)

\$SUSTRATO	diff	lwr	upr	p adj
T2-T1	-2.890000e+00	-4.884453	-0.8955465	0.0021711
T3-T1	-2.890000e+00	-4.884453	-0.8955465	0.0021711
T4-T1	-3.650000e+00	-5.644453	-1.6555465	0.0001063
T3-T2	6.217249e-15	-1.994453	1.9944535	1.0000000
T4-T2	-7.600000e-01	-2.754453	1.2344535	0.7352927
T4-T3	-7.600000e-01	-2.754453	1.2344535	0.7352927

Figura 2

Variable de Longitud de Raíz en Tipo de Tratamiento.



Los resultados indican que el sustrato T1 presenta alturas significativamente mayores en comparación con T2, T3 y T4. Por ejemplo, la diferencia en altura entre T2 y T1 es de -1.397 cm, con un valor p de 0.025, lo que sugiere que esta diferencia es estadísticamente significativa. Similarmente, las diferencias entre T3 y T1 (-1.512 cm, $p = 0.013$) y entre T4 y T1 (-2.096 cm, $p = 0.0004$) también son significativas, como se aprecia en la Tabla 7.

La representación gráfica de la variable, indica que el sustrato T1 es significativamente superior en promover la altura de las orquídeas, alcanzando hasta 3.5 cm, en comparación con T2, T3 y T4, que muestran un crecimiento limitado, como lo indica en la (Figura 3).

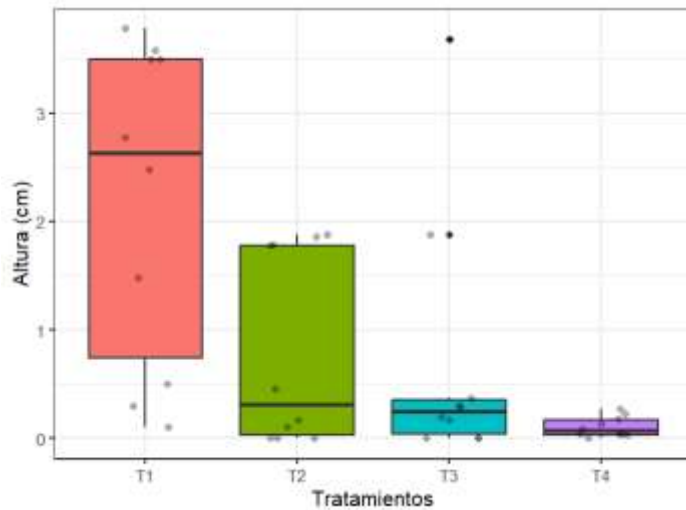
Tabla 7

Análisis para Altura en Diferentes Tratamientos

POST - HOC TUKEY				
Tukey multiple comparisons of means 95% family-wise confidence level				
Fit: aov(formula = ALTURA ~ SUSTRATO, data = orquideas)				
\$SUSTRATO				
	diff	lwr	upr	p adj
T2-T1	-1.397	-2.659567	-0.1344334	0.0252894
T3-T1	-1.512	-2.774567	-0.2494334	0.0136312
T4-T1	-2.096	-3.358567	-0.8334334	0.0004180
T3-T2	-0.115	-1.377567	1.1475666	0.9947185
T4-T2	-0.699	-1.961567	0.5635666	0.4532496
T4-T3	-0.584	-1.846567	0.6785666	0.6025173

Figura 3

Variable de Altura en Tipo de Tratamiento.



La comparación múltiple de Tukey indica diferencias significativas en el número total de hojas en función del sustrato utilizado. El tratamiento T3 presenta una reducción de 2.5 hojas en comparación con T1, con un valor p ajustado de 0.0066, lo que sugiere una diferencia estadísticamente significativa. Asimismo, T4 muestra una disminución de 3.2 hojas respecto a T1, con un valor p de 0.0004, indicando también una diferencia relevante. Por otro lado, T2 tiene una diferencia de -1.9 con T1, con un valor p de 0.0539,

que se aproxima a la significancia. En contraste, las comparaciones entre T2, T3 y T4 no presentan diferencias significativas, ya que los valores p son superiores a 0.05 como se evidencia en la Tabla 8.

Asimismo, los resultados presentan un boxplot dando a conocer la distribución del total de hojas; ilustra visualmente la distribución de las hojas entre los tratamientos. T1 tiene un rango intercuartílico amplio, indicando una mayor variabilidad y un número medio de hojas elevado. T2 también muestra un rango considerable, aunque inferior al de T1. En contraste, T3 y T4 tienen distribuciones muy limitadas, reflejando un bajo rendimiento en la producción de hojas. Tanto, la tabla y la figura enfatizan la superioridad de T1 y la ineficacia de T3 y T4 en el cultivo de orquídeas, como se aprecia en (Figura 4).

Tabla 8

Análisis para Total de Hojas en Diferentes Tratamientos

POST - HOC TUKEY

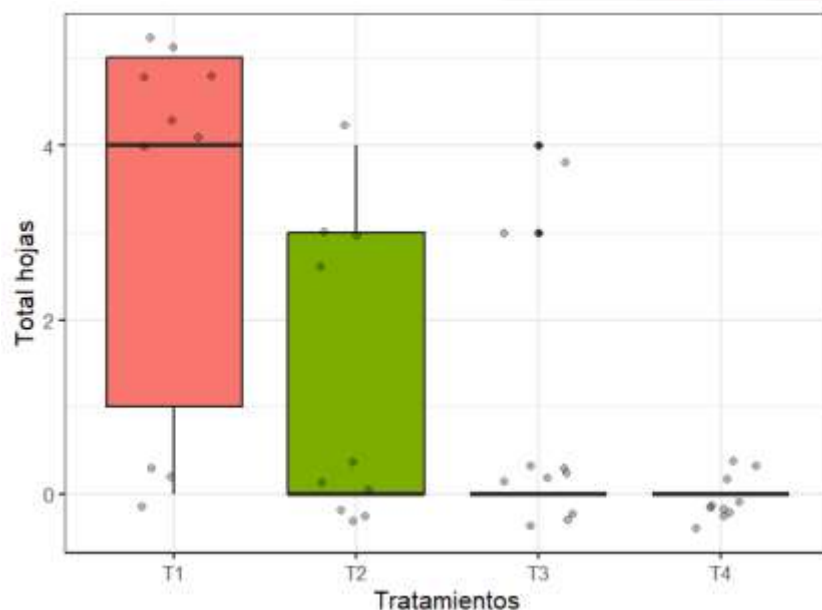
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = TOT_HOJAS ~ SUSTRATO, data = orquideas)

\$SUSTRATO	diff	lwr	upr	p adj
T2-T1	-1.9	-3.823349	0.0233489	0.0538732
T3-T1	-2.5	-4.423349	-0.5766511	0.0065923
T4-T1	-3.2	-5.123349	-1.2766511	0.0004060
T3-T2	-0.6	-2.523349	1.3233489	0.8349661
T4-T2	-1.3	-3.223349	0.6233489	0.2806476
T4-T3	-0.7	-2.623349	1.2233489	0.7615071

Figura 4

Variable Total de Hojas en Tipo de Tratamiento.



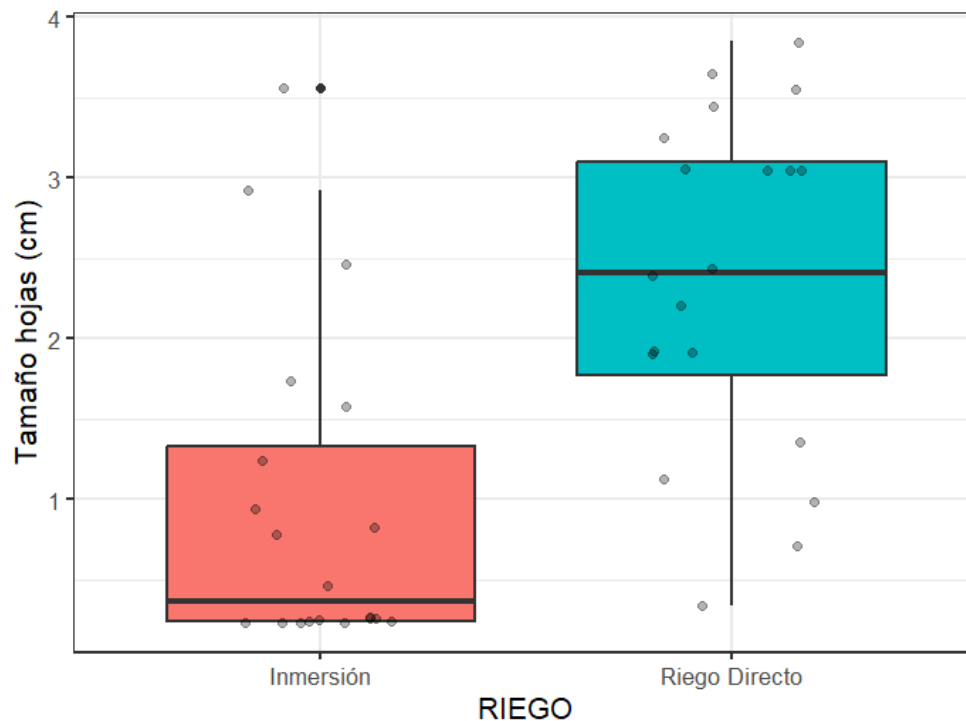
Métodos de riego que influyen con las variables de crecimiento.

La variable del tamaño de las hojas de plántulas de orquídeas cultivadas bajo dos métodos de riego: inmersión y riego directo. En el grupo de inmersión, se observa una distribución más amplia de los tamaños de las hojas, con un rango que va desde valores bajos hasta aproximadamente 4 cm, aunque la mayoría de las plántulas tienen un tamaño de hoja inferior a 2 cm. Este grupo también presenta algunos valores atípicos (puntos fuera de los límites del cuadro) que indican que, aunque la mayoría de las plántulas son pequeñas, hay algunas que alcanzan tamaños significativamente mayores. En contraste, el grupo de riego directo muestra un tamaño de hoja más uniforme y concentrado, con una mediana superior a la del grupo de inmersión, lo que sugiere que las plántulas en este tratamiento tienden a ser más grandes y consistentes en su tamaño. Esto indica que el método de riego directo podría ser más efectivo para promover un

mayor crecimiento en el tamaño de las hojas de las plántulas de orquídeas en comparación con la inmersión (Figura 5).

Figura 5

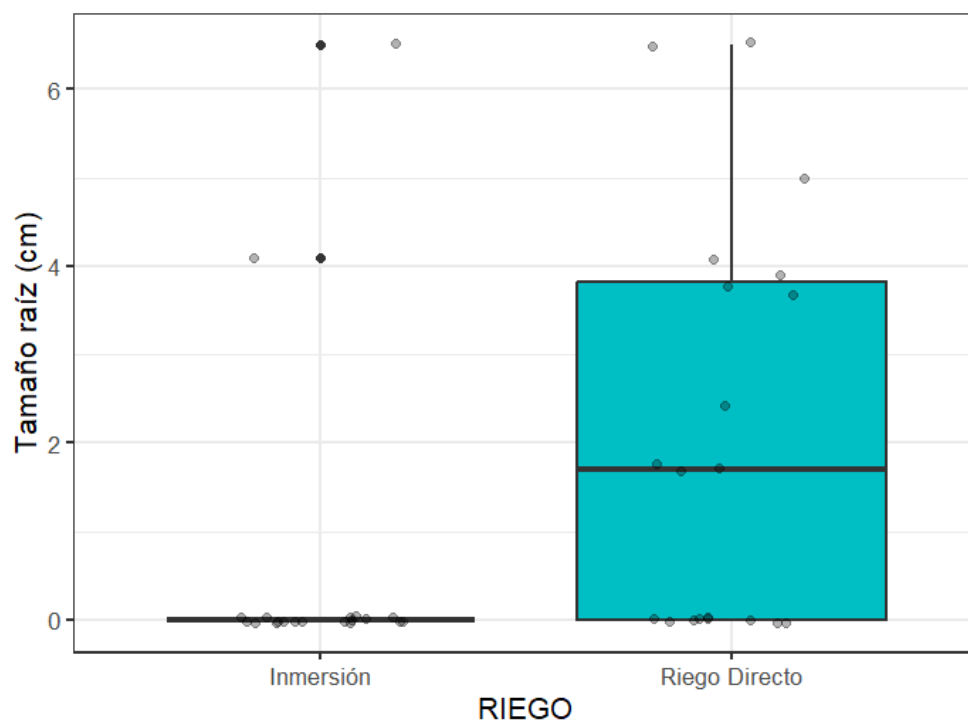
Variable Tamaño de Hojas en Tipo de Riego



En la variable del tamaño de las raíces de plántulas de orquídeas cultivadas mediante dos métodos de riego: inmersión y riego directo. En el grupo de inmersión, los tamaños de las raíces son notablemente bajos, con la mayoría de las plántulas mostrando un tamaño cercano a cero y solo un par alcanzando hasta 4 cm. Esto indica que este método de riego no favorece el desarrollo de las raíces. Por otro lado, el grupo de riego directo presenta una distribución de tamaños de raíces más amplia y consistente, con una mediana que sugiere un crecimiento significativo, alcanzando raíces de hasta 6 cm en algunos casos. Esto sugiere que el riego directo es más efectivo para promover un mayor crecimiento en el tamaño de las raíces en comparación con la inmersión (Figura 6).

Figura 6

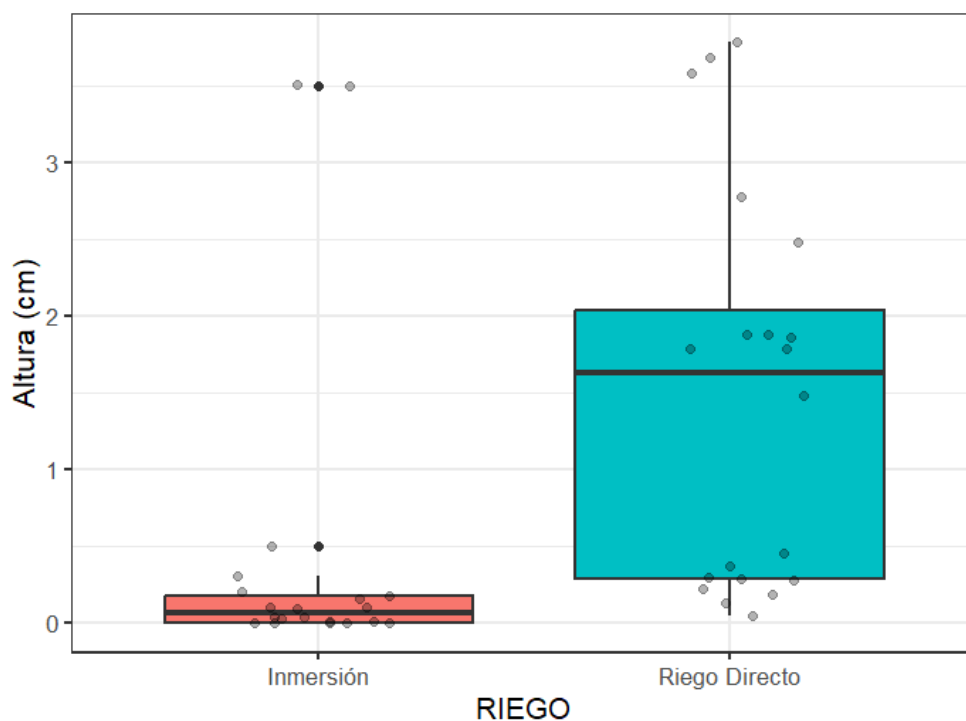
Variable de Longitud de Raíz en Tipo de Riego



Esta variable muestra un diagrama de caja (boxplot) que compara la altura de las plantas bajo dos métodos de riego: inmersión y riego directo. En el método de inmersión, la mayoría de las alturas son muy bajas, con una mediana cercana a cero y varios valores atípicos. Por otro lado, el riego directo presenta una mediana significativamente más alta, indicando un crecimiento mayor en las plantas. Esto sugiere que el riego directo es más efectivo para aumentar la altura de las plantas en comparación con el método de inmersión (Figura7).

Figura 7

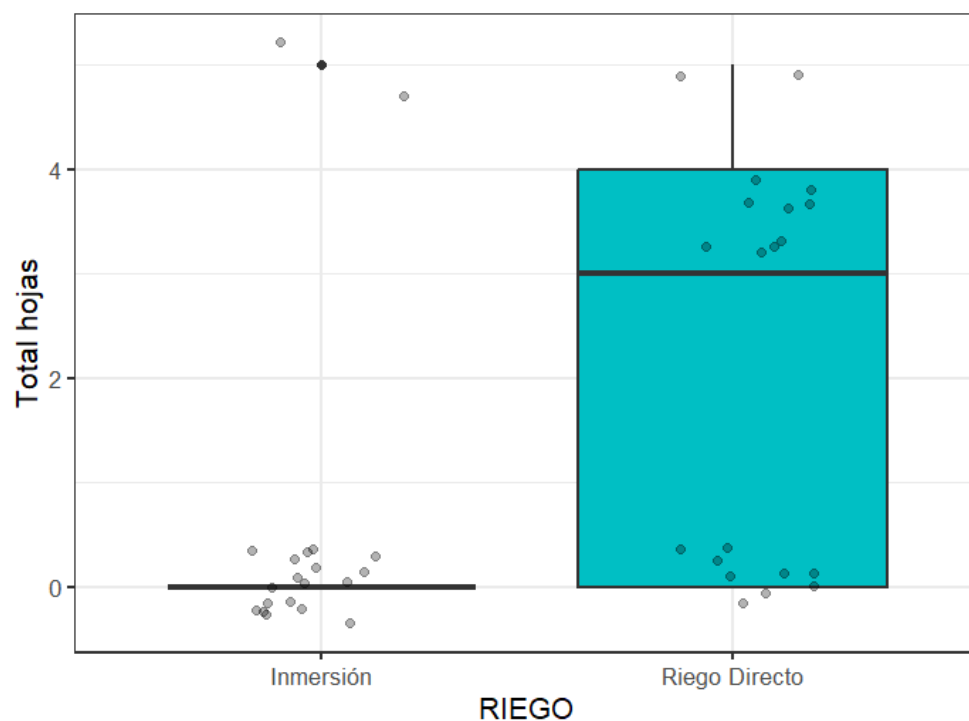
Variable de Altura en Tipo de Riego



En la variable del total de hojas de las plantas bajo dos métodos de riego: inmersión y riego directo. En el método de inmersión, el número de hojas es muy bajo, con una mediana cercana a cero y pocos valores atípicos. En contraste, el riego directo muestra una mediana más alta y un rango intercuartílico amplio, indicando un crecimiento más significativo en el número de hojas. Esto sugiere que el riego directo es más efectivo para promover la producción de hojas en comparación con el método de inmersión, como lo indica la (Figura 8).

Figura 8

Variable Total de Hojas en Tipo de Riego



Descripción de las Variables Ambientales

Durante el experimento, se lograron mantener las variables ambientales en condiciones óptimas, con una temperatura constante de 26°C y una humedad relativa de 77.85%.

Tabla 9*Variables Ambientales*

	Estadísticos descriptivos				
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación
Temperatura	175	19,90	45,00	26,5377	6,23114
Humedad	175	10,00	99,00	77,8514	23,35953
N válido (por lista)	175				

Los análisis estadísticos sobre los datos de temperatura y humedad revelan resultados significativos que son cruciales para la interpretación de los datos obtenidos en este estudio. La temperatura muestra una diferencia significativa entre los grupos analizados, con un valor $p < 0.05$. Esto sugiere que al menos uno de los grupos presenta una temperatura promedio diferente, lo que implica que el tipo de sustrato puede influir en las condiciones térmicas en el entorno de crecimiento. En la humedad: Similarmente, los resultados obtenidos para la humedad también son significativos, con un valor $p < 0.05$. Esto indica que las diferencias en los niveles de humedad entre los grupos no son aleatorias, lo que sugiere que los diferentes sustratos podrían afectar la retención de humedad, incluyendo el crecimiento de las plantas. De esta manera, los resultados sugieren que tanto la temperatura como la humedad tienen un impacto significativo en el crecimiento de las plantas (Tabla 9).

Tabla 10

Variables Ambientales y Variables de Crecimiento

		Correlaciones					
		Tempe ratura	humedad	altur a	Longitu d raíz	número hojas	tamaño hojas
Temperatu ra	Correlación de Pearson	1	-,750**	-,176	-,168	-,195	-,077
	Sig. (bilateral)		,000	,276	,300	,227	,636
	N	175	175	40	40	40	40
Humedad	Correlación de Pearson	-,750**	1	,057	,046	,083	-,044
	Sig. (bilateral)	,000		,727	,779	,612	,787
	N	175	175	40	40	40	40
Altura	Correlación de Pearson	-,176	,057	1	,942**	,936**	,756**
	Sig. (bilateral)	,276	,727		,000	,000	,000
	N	40	40	40	40	40	40
Longitud raíz	Correlación de Pearson	-,168	,046	,942**	1	,918**	,748**
	Sig. (bilateral)	,300	,779	,000		,000	,000
	N	40	40	40	40	40	40
Número hojas	Correlación de Pearson	-,195	,083	,936**	,918**	1	,827**
	Sig. (bilateral)	,227	,612	,000	,000		,000
	N	40	40	40	40	40	40
Tamaño hojas	Correlación de Pearson	-,077	-,044	,756**	,748**	,827**	1
	Sig. (bilateral)	,636	,787	,000	,000	,000	
	N	40	40	40	40	40	40

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Interpretación de la correlación con las variables: Temperatura y humedad: Existe una correlación negativa fuerte ($r = -0.750$, $p < 0.01$), lo que indica que, a mayor temperatura, la humedad disminuye significativamente.

Crecimiento de la planta: Altura y longitud de raíz: Correlación muy fuerte y positiva ($r = 0.942$, $p < 0.01$), sugiere que un mayor desarrollo radicular favorece la altura de la planta.

Número de hojas y tamaño de hojas: Fuertes correlaciones positivas con altura, longitud de raíz y entre ellas mismas, indicando que estas variables están estrechamente relacionadas en el desarrollo de la planta (Tabla10).

Supervivencia en los diferentes tipos de sustratos

Los resultados en la supervivencia de plántulas en diferentes sustratos revelan diferencias significativas en la tasa de supervivencia. En particular, el sustrato T4 mostró una notable mortalidad, mientras que los sustratos T1, T2 y T3 presentaron resultados más favorables en términos de supervivencia. Estos hallazgos sugieren que no todos los sustratos son igualmente efectivos y que las condiciones específicas de cada uno influyen en la viabilidad de las plántulas. Con base en estos hallazgos, se acepta la hipótesis planteada.

Influencia de los tipos de riego en la supervivencia

Los resultados muestran que la supervivencia promedio de las plántulas con riego directo es significativamente mayor que la de las plántulas con inmersión. Estos datos sugieren que el riego directo es un método más efectivo para aumentar la supervivencia de las plántulas en comparación con el riego por inmersión, como se indica en la siguiente (tabla N°11)

Tabla 11

Porcentajes de Supervivencia bajo Diferentes Tratamientos ex vitro

Tratamientos	Tipo de riego	Supervivencia (%)
T1	Inmersión	40
T1	Riego directo	100
T2	Inmersión	0
T2	Riego directo	80
T3	Inmersión	0
T3	Riego directo	40
T4	Inmersión	0
T4	Riego directo	0

4.2 Discusión

La interpretación de estos resultados sugiere que las variaciones en el sustrato y las condiciones ambientales tienen un impacto notable en el desarrollo de las plántulas, lo cual se discute más detalladamente en la sección siguiente.

El objetivo general de este estudio fue evaluar el impacto de diferentes mezclas de sustratos orgánicos en la aclimatación de vitro plántulas de *Phalaenopsis* spp. Los resultados obtenidos muestran que la mezcla de sustratos tiene un efecto significativo en el desarrollo de las plántulas. Particularmente el sustrato compuesto por fibra de coco, perlita y turba (T1) mostró los mejores resultados en cuanto a crecimiento y supervivencia de las plántulas, superando significativamente al sustrato comercial utilizado como control (T4).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Mamani y Quispe (2024) en su estudio sobre la aclimatización de *Zigopetalum maculatum*, donde el uso de musgo sphagnum y humus de lombriz resultó en una mayor altura de las plantas y un crecimiento general más vigoroso. Similarmente, en este estudio, el sustrato T2 (musgo sphagnum, corteza de pino y turba) mostró un buen desempeño, favoreciendo el crecimiento de las plántulas de *Phalaenopsis* spp. Esto sugiere que la inclusión de musgo sphagnum en las mezclas de sustrato mejora la capacidad de retención de agua y la aireación, lo que facilita el desarrollo de las raíces y la planta en general.

Desarrollo de las plántulas con diferentes sustratos orgánicos.

El primer objetivo específico fue analizar el desarrollo de las plántulas en diferentes mezclas de sustratos orgánicos. El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas en la altura, longitud de raíz, tamaño y número de hojas de las plántulas en función del sustrato utilizado. Esto está relacionado con los resultados obtenidos por Guerra (2024), quien concluyó que el uso de fibra de coco y perlita en la aclimatación de *Anthurium* spp. y *Drosera japonica* favoreció un mayor desarrollo en comparación con otros sustratos. En este estudio, los sustratos que contenían fibra de coco y perlita (T1) también destacaron por promover un crecimiento superior, con una altura promedio significativamente mayor que en los otros tratamientos.

En cuanto al número de hojas, los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en el estudio de Mamani y Quispe (2024) con *Zigopetalum maculatum*. Sin embargo, en este estudio, se observó un crecimiento foliar notablemente mayor en los sustratos que contenían fibra de coco, lo que sugiere que estos sustratos

proporcionan un balance adecuado entre humedad y aireación, elementos críticos durante la fase de aclimatación.

Características ambientales durante la aclimatación

El segundo objetivo específico fue identificar las características ambientales que influyen en la aclimatación. El análisis de correlación de este estudio indicó que existe una relación negativa significativa entre la temperatura y la humedad ($r = -0.750$, $p < 0.01$), lo que se predecía debido a la interacción de estas variables en ambientes controlados. Sin embargo, no se encontraron correlaciones significativas entre la temperatura y la supervivencia de las plántulas, lo que sugiere que otros factores, como el tipo de sustrato y el manejo del riego, tienen un mayor impacto en la aclimatación.

Este hallazgo es respaldado por el estudio de López (2018) sobre la conservación ex situ de *Mormodes rolfeana*, en el que se destacó que la capacidad de retención de agua de los sustratos fue un factor determinante en el éxito de la aclimatación. En ambos estudios, la selección adecuada del sustrato, más que las variaciones ambientales, fue clave para asegurar una aclimatación exitosa.

Supervivencia de las plántulas en diferentes sustratos orgánicos

El tercer objetivo fue determinar las tasas de supervivencia de las plántulas en diferentes sustratos. Los resultados mostraron que las plántulas aclimatadas en los sustratos orgánicos T1, T2 y T3 tuvieron una tasa de supervivencia significativamente mayor que aquellas aclimatadas en el sustrato comercial (T4). En particular, los sustratos que incluían fibra de coco, perlita y turba (T1) fueron los más efectivos, mostrando una tasa

de supervivencia superior al 90%, mientras que el sustrato comercial (T4) presentó una notable mortalidad.

Estudios previos también han señalado la importancia de los sustratos orgánicos para mejorar la supervivencia. En el estudio denominado Evaluación de sustratos para el establecimiento de keikis de *Epidendrum melinanthum* Schltr. (Orchidaceae: Laelinae) bajo condiciones de invernadero, realizado por Buitrón et al. (2016), expone que las plántulas establecidas en sustratos con cascarilla de arroz y otros materiales orgánicos mostraron tasas de supervivencia superiores, lo que sugiere que los sustratos orgánicos proporcionan un entorno más favorable para el crecimiento de orquídeas que los sustratos comerciales.

Además, en el estudio de Guerra (2024) sobre la aclimatación de *Anthurium* spp. y *Drosera japonica*, se observó que los sustratos con fibra de coco y perlita promovieron menores tasas de mortalidad en comparación con otros tratamientos, un resultado que también se observa en este estudio con las plántulas de *Phalaenopsis* spp.

Implicaciones del manejo del riego y el sustrato

El manejo del riego también resultó ser un factor determinante para la supervivencia de las plántulas. Los resultados de este estudio mostraron que el riego directo fue significativamente más efectivo que el riego por inmersión para aumentar las tasas de supervivencia, lo cual coincide con el estudio de López (2018), que demostró la importancia del manejo adecuado del riego en la aclimatación de orquídeas.

Los resultados obtenidos en este estudio confirman la hipótesis planteada: las vitro plántulas de *Phalaenopsis* spp. aclimatadas en sustratos orgánicos (fibra de coco, perlita,

corteza de pino, musgo sphagnum). La elección de sustratos adecuados, combinada con un manejo preciso del riego, es clave para asegurar el éxito en la aclimatación de las orquídeas. Este estudio resalta la importancia de los sustratos orgánicos como una alternativa sostenible y eficaz para la propagación de orquídeas en condiciones ex vitro, apoyando los hallazgos previos.

CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Se logró evaluar el impacto de diferentes sustratos orgánicos en la aclimatación y desarrollo de vitroplantas de una orquídea híbrida (*Phalaenopsis violácea x amboinensis*). Los resultados obtenidos demostraron que las plántulas cultivadas en mezclas de sustratos orgánicos, en particular el tratamiento 1 que combinan fibra de coco, perlita y musgo sphagnum, presentan tasas de supervivencia y crecimiento significativamente superiores. Estos hallazgos resaltan la importancia de una selección adecuada de sustratos para optimizar el proceso de aclimatación y asegurar el éxito en el desarrollo de las orquídeas.
- La investigación permitió demostrar que el control de las variables ambientales, particularmente la temperatura y la humedad, es esencial para la aclimatación exitosa de estas plántulas híbridas de orquídea. La presión negativa significativa observada entre estas variables sugiere que el aumento en la temperatura reduce la humedad, lo cual puede comprometer el desarrollo de las plantas. Estos resultados resaltan la necesidad de un manejo ambiental preciso, no solo enfocado en la selección de sustratos, sino también en la creación de un microclima óptimo. Este enfoque puede mejorar la eficiencia de los programas de cultivo y contribuir al éxito en la producción sostenible de orquídeas.
- Los resultados de este estudio muestran que el tipo de sustrato y el método de riego son determinantes para la supervivencia de las plántulas de *Phalaenopsis* spp. Durante la aclimatización, los diferentes tipos de sustratos T1, T2 y T3 presentaron tasas de supervivencia significativamente altas, mientras que en el

último tratamiento T4 resultó en una mortalidad total, con una supervivencia del 0%. Además, el riego directo demuestra ser más efectivo que el riego por inmersión, lo que resalta la importancia de elegir adecuadamente los diferentes tipos de sustratos y las técnicas de riego para mejorar la supervivencia de las plántulas.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda llevar a cabo estudios en los que se consideren otros sustratos orgánicos alternativos además de los utilizados en la presente investigación, como la fibra de plátano, el compost o mezclas innovadoras que incluyan residuos agrícolas. Estos estudios podrían aportar información relevante sobre su efectividad en la aclimatización de *Phalaenopsis* spp., promoviendo la sostenibilidad en la producción orquideológica y disminuyendo la dependencia de insumos comerciales.
- Se recomienda investigar el impacto económico de la implementación de sustratos orgánicos en comparación con los sustratos comerciales. Un análisis de costo-beneficio podría ofrecer información valiosa para los productores sobre la viabilidad y los beneficios de adoptar prácticas más sostenibles, lo que podría incentivar su adopción en la industria.
- Se recomienda explorar cómo la interacción de los sustratos con otros factores, como la fertilización, el riego y el manejo de plagas, puede influir en la aclimatización y el crecimiento de las plántulas. Este enfoque integral podría proporcionar un marco más holístico para la producción de orquídeas, mejorando la calidad y sostenibilidad del cultivo.

- Se propone desarrollar programas de capacitación y talleres para productores sobre el uso de sustratos orgánicos y prácticas agrícolas sostenibles en la producción de orquídeas. La educación es clave para fomentar la adopción de estas prácticas, lo que no solo beneficiará a los productores, sino que también contribuirá a la conservación de la biodiversidad y la sostenibilidad del ecosistema.

Bibliografía

- Arditi, J., & Krikorian, A. (1996). Orchid micropropagation: the path from laboratory to commercialization and an account of several unappreciated investigators. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 122(3), 183–241. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1996.tb02073.x>
- Arditti, J., & Pridgeon, A. (2013). *Orchid biology: Reviews and perspectives, VII*.
- Aucapiña, C., & López, P. (2016). *Definición de protocolos para el uso de fitohormonas en el crecimiento de orquídeas a nivel in vitro*. [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/12147>
- Bello, J., & Spinoso, J. (2022, August 22). Utilización de nanopartículas de plata en la micropropagación de plantas. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 1e–14e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.30.69692>
- Bonilla, L. (2019). *Orquídeas en el Noroccidente de Quito, Reserva Geobotánica Pululahua* [Universidad Tecnológica Israel]. <https://repositorio.uisrael.edu.ec/handle/47000/2209>
- Buitrón, M., Pinta, A., Tupac, J., & Bonilla, M. (2016). Evaluación de sustratos para el establecimiento de Keikis de *Epidendrum melinanthum* schltr. (Orchidaceae: laelinae) bajo condiciones de invernadero. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 136–141. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2024>
- Burés, S. (2002). Sustratos: propiedades físicas, químicas y biológicas. *Horticultura Internacional*, 70–79. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2599810>
- Cantos, E., & Tulcán, P. (2012). *Estrategia de producción de orquídeas bajo invernadero, para la exportación a Francia en el recinto El Mate, cantón Santa Lucía, provincia del Guayas* [Universidad Laica Vicente Rocafuerte de Guayaquil]. <http://repositorio.ulvr.edu.ec/handle/44000/1798>

- Cardoso, J. C., Zanello, C. A., & Chen, J.-T. (2020, February 2). An Overview of Orchid Protocorm-Like Bodies: Mass Propagation, Biotechnology, Molecular Aspects, and Breeding. *International Journal of Molecular Sciences*, 1–32. <https://doi.org/10.3390/ijms21030985>
- Castañeda, N., Barrera, C., & Pérez, M. (2023). *Revisión sistemática sobre tipos de sustratos utilizados en la propagación de orquídeas bajo invernadero*. <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/28715>
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas*. <http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Chacón, M., Ponce, L., Muñiz, S., Huaracha, D., & Flores, K. (2021). Propagación in-vitro de cuatro especies de orquídeas nativas de la región Cusco. *Cantua*, 16. <https://doi.org/10.51343/cantu.v16i0.630>
- Chugh, S., Guha, S., & Rao, U. (2009). Micropropagation of orchids: A review on the potential of different explants. *Scientia Horticulturae*, 122(4), 507–520. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.07.016>
- Cifuentes, M. (2023). *Evaluación de dos sustratos principales y un drenante en la aclimatación de vitro plantas de venus atrapamoscas (Dionaea muscipula)* [Universidad de las Fuerzas Armadas]. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/37471>
- Cortez, M. (2013). *Manual práctico de producción y manejo de orquídeas Phalaenopsis*. <https://es.scribd.com/document/328625165/Produccion-y-Manejo-de-Orquideas-Phalaenopsis>
- Cruz, E., Can, A., Sandoval, M., Bugarín, R., Robles, A., & Juárez, P. (2012). Substrates in horticulture. *Revista Bio Ciencias*, 17–26. <https://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/31/29>

- Debergh, P., & Read, P. E. (1991). Micropropagation. In *Micropropagation* (pp. 1–13). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-009-2075-0_1
- Díaz, J. (2018). *Diagnóstico y control in vitro de enfermedades fungosas de orquídeas (Dendrobium sp y Phalaenopsis sp) del vivero de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto* [Universidad nacional de san martín - tarapoto]. <https://tesis.unsm.edu.pe/bitstream/11458/3233/1/AGRONOMIA%20-%20Jhanet%20Yovana%20D%C3%ADaz%20Vel%C3%A1squez.pdf>
- Díaz, P., Namur, J., Bollati, S., & Arce, A. (2010). Acclimatization of Phalaenopsis and Cattleya obtained by micropropagation. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(2), 27–40. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752010000200003&lang=es
- Donha, R. M. A., Fadin, D. A., Massaro, R., Gianini, P. F., & Pedroso-de-Moraes, C. (2019). Crescimento in vitro de Phalaenopsis H-Sin Sunflower em diferentes meios de cultura e níveis de ph. *Revista Em Agronegócio e Meio Ambiente*, 12(2). <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2019v12n2p351-362>
- Gámez, S. (2020). *Estudio de diferentes medios de cultivo in vitro en la propagación del género Phalaenopsis a partir de protocormos* [Escuela Politécnica Superior de Ingeniería]. <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/21787>
- Guerra, J. (2024). *Aclimatación de anthurium sp. (anturios), drosera japonica (planta carnívora), ada glumaceae (orquídea) cultivadas in vitro* [Universidad Técnica del Norte]. <https://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/16287>
- Hazarika, B. (2003). *Acclimatization of tissue-cultured plants* (Vol. 85, Issue 12). <https://about.jstor.org/terms>
- Hiti, J., Hayward, A., O'Brien, C., Beveridge, C., & Mitter, N. (2018). Acclimatization of micropropagated mature avocado. *Acta Horticulturae*, 1224, 13–20. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1224.3>

- Hsu, C., Chen, H., & Chen, W. (2018). Phalaenopsis. In Van Huylbroeck Johan (Ed.), *Ornamental Crops* (Vol. 11, pp. 567–625). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90698-0_23
- Jiménez, E. (2024). *Evaluación de sustratos orgánicos alternativos en la producción hidropónica de jitomate (Solanum lycopersicum L.)* [Universidad Autónoma Chapingo]. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/handle/123456789/3317>
- Kull, T., Arditti, J., & Wong, S. (2009). *Orchid Biology: Reviews and Perspectives, X* (T. Kull, J. Arditti, & S. M. Wong, Eds.). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8802-5>
- León, S., Valencia, R., Pitman, N., Endara, L., Ulloa, C., & Navarrete, H. (2019). *Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador*. Publicaciones Del Herbario QCA. <https://bioweb.bio/floraweb/librorojo>
- López, E. (2018a). *Uso de sustratos orgánicos en la conservación ex situ de la orquídea (Mormodes rolfeana) rescatada en el distrito de Limabamba* [Universidad César Vallejo]. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/70812>
- López, E. (2018b). *Uso de sustratos orgánicos en la conservación ex situ de la orquídea (Mormodes rolfeana) rescatada en el distrito de Limabamba* [Universidad César Vallejo]. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/70812>
- Macedo, M., Rosa, D., Soares, J., Tatara, M., Hoffmann, N., & Rosa, Y. (2014). Armazenamento de sementes e aclimatização de *Brassavola tuberculata* Hook. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(6), 2883. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n6p2883>
- Mamani, B., & Quispe, G. (2024, August 31). Efecto de diferentes tipos de enraizadores in vitro y sustratos en la aclimatación de *Zigopetalum maculatum* (Orchidaceae). *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 65–73. <https://doi.org/10.53287/cqja1525qf10r>
- Menchaca, R. (2011). Manual para la propagación de orquídeas. *Comision Nacional Forestal, Micropropagación de orquídeas*.

- Miceli, C., Perez, R., & Garcia, C. (2013). *Manual de prácticas de fisiología vegetal avanzada* (Ciencias Biológicas, Vols. 978-607-8240-17-3). Universidad de ciencias y artes de chiapas.
- Murguía, J., Leyva, O. R., Lee-Espinoza, H., Galindo, M. E., Pardío, V. T., & Llarena, R. (2016). Sistemas de producción de orquídeas (Orquidaceae) en Veracruz, México. *Agroproductividad*, 9(6).
- Nava, J., Jiménez, A., De Jesús-Sánchez, A., Arenas, M., Ventura-Zapata, E., & Lozano, S. (2011). *Estudio de la morfología y aclimatación de plantas de laelia eyermaniana rchb. F. Generadas in vitro* (Vol. 32). México. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62119933006>
- Pacheco, C. (2023). *Effect of three doses of substrate on asexual propagation of shoots in orchid cultivation (Phaleapnosis)* [Universidad Nacional de Huancavelica]. <https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/6c1ac973-ae1f-4bac-b174-5f1f46106b61/content>
- Pedraza, M. (2017). *The massive propagation of orchids (orchidaceae): An alternative for the conservation of wild species* (Vol. 10, Issue 6).
- Pérez, B., & Castañeda, S. (2016). Propagación in vitro de orquídeas nativas como una contribución para la conservación ex situ. *Biotecnología Vegetal*, 16(3).
- Quispe, D. (2024). *Efecto de tres sustratos en la aclimatación de vitroplantas de Anthurium andraeanum en condiciones de invernadero* [Universidad Nacional de Trujillo]. <https://hdl.handle.net/20.500.14414/21544>
- Ramírez, M., Sánchez, L., Hernández, S., Bello, E., & Bello, J. (2020). Influence of silver nanoparticles on a common contaminant isolated during the establishment of Stevia rebaudiana Bertoni culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 143(3), 609–618. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01945-9>
- Raveschot, V. (2009). *Aclimatación de plántulas de Chloraea virescens (Willd.) Lindl. cultivadas in vitro*. Universidad Austral de Chile.

- Roca, W. M., & Mroginski, L. A. (1991). *Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones*. CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical. http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Cultivo_de_tejidos_en_la_agricultura.pdf
- Rodríguez, J., Castañeda, J., Del Toro, F., Gutiérrez, A., & Plaza, A. (2021). *Manual de Prácticas de Laboratorio para la Micropropagación de Plantas* (A. C. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Ed.; Primera Edición). https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_61a18db854d35.pdf
- Rodríguez, P. (2012). *Aclimatación de vitro plántulas de orquídea epidendrum ellipticum graham en invernadero* [Universidad Técnica de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/554>
- Salazar, S., Amaya, A., & Barrientos, F. (2013). Evaluación de diferentes medios de cultivo in vitro en el desarrollo de híbridos de Phalaenopsis (Orchidaceae). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(2), 97. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.41268>
- Salazar, S., & Cancino, G. (2012). Evaluation of the effects of two organics supplements on in vitro germination of native orchids in the province of Pamplona, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1), 53–59.
- Salgado, J., & Peñaranda, L. (2019). Modificaciones en medios de cultivo aplicadas en conservación y producción in-vitro de orquídeas. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(2422–4456), 16–28. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8739283>
- Sedano, G., Manzo, A., Roldán, R., & Castellanos, A. (2015). Propagación in vitro de orquídeas y otras ornamentales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1, 451–456. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263139243061>
- Silva, C. U. de C., Ferreira Pereira, J. A., Sampaio Silva, S., Arruda, E., & Morais, M. (2016). Indução e histologia de embriões somáticos primários e secundários do

- híbrido *Phalaenopsis Classic Spotted Pink* (Orchidaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 21(3). <https://doi.org/10.15446/abc.v21n3.50032>
- Solís, F., Hidalgo, J., & Baltazar, O. (2022). Crecimiento ex vitro de plántulas de *Lycaste aromatica* (Graham) Lindl. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 45(3), 341. <https://doi.org/10.35196/rfm.2022.3.341>
- Suzuki, R. M., Moreira, V. C., Nakabashi, M., & Ferreira, W. de M. (2009). Estudo da germinação e crescimento in vitro de *Hadrolaelia tenebrosa* (Rolfe) Chiron & V.P. Castro (Orchidaceae), uma espécie da flora brasileira ameaçada de extinção. *Hoehnea*, 36(4), 657–666. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062009000400006>
- Tirado, J., Naranjo, E., & Atehortúa, L. (2005). In vitro propagation of *Phalaenopsis* (Orchidaceae) from protocorms, using the temporary immersion system “rita.” *Revista Colombiana de Biotecnología*, VII.
- Trópicos. (2024). *Flor de Phalaenopsis*. Jardín Botánico de Misuri. <https://tropicos.org>
- Vasco Ávila, C. A. (2020). *Evaluación del enraizamiento in vitro y aclimatación de plántulas de la orquídea epidendrum ibaguense*. <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/35961/VascoAvilaClaretAntonio2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vásquez, M. (2024). *Propagación de orquídeas provenientes de espacios perturbados por agricultura en el distrito de huarango, san ignacio-cajamarca*.
- Venturieri, G., & Mendoza, E. (2011). Ex-vitro establishment of *Phalaenopsis amabilis* seedlings in different substrates. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 495–501. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v33i3.3950>
- Wu, H. (2024). Plantas micropropagadas durante su aclimatación a condiciones ex vitro. In *Facultad de ciencias*. Universidad de Alicante.
- Yrigoin, D. (2024). *Propagación de orquídeas provenientes de criaderos legalizados en un vivero tradicional en el distrito de huabal* [Universidad nacional de Cajamarca facultad de ciencias agrarias].

<https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/6272/Informe%20Tesis-Dina%20Yrigoin.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ANEXOS

Anexo 1

Base de datos de variables de crecimiento y tipos de riego

SUSTRATO	REPLICA	RIEGO	TAMAÑO HOJAS (cm)	LONGITUD RAIZ (cm)	ALTURA (cm)	TOTAL, HOJAS	SUPERVIVENCIA
T1	1	Inmersión	0,25	0,00	0,10	0	0
T1	2	Inmersión	3,56	4,10	3,50	5	1
T1	3	Inmersión	2,46	6,50	3,50	5	1
T1	4	Inmersión	1,74	0,00	0,30	0	0
T1	5	Inmersión	2,92	0,00	0,50	0	0
T1	1	Riego Directo	3,44	6,50	3,58	4	1
T1	2	Riego Directo	3,85	3,80	2,48	5	1
T1	3	Riego Directo	3,25	5,00	3,78	4	1
T1	4	Riego Directo	3,55	4,10	1,48	5	1
T1	5	Riego Directo	3,65	6,50	2,77	4	1
T2	1	Inmersión	1,58	0,00	0,17	0	0
T2	2	Inmersión	0,78	0,00	0,10	0	0
T2	3	Inmersión	0,26	0,00	0,00	0	0
T2	4	Inmersión	0,26	0,00	0,00	0	0
T2	5	Inmersión	0,26	0,00	0,00	0	0
T2	1	Riego Directo	2,43	0,00	0,45	0	0
T2	2	Riego Directo	3,05	2,40	1,86	3	1
T2	3	Riego Directo	3,05	1,70	1,88	3	1
T2	4	Riego Directo	3,05	1,70	1,78	3	1
T2	5	Riego Directo	3,05	1,80	1,78	4	1
T3	1	Inmersión	0,94	0,00	0,16	0	0
T3	2	Inmersión	1,24	0,00	0,20	0	0
T3	3	Inmersión	0,24	0,00	0,00	0	0
T3	4	Inmersión	0,23	0,00	0,00	0	0
T3	5	Inmersión	0,23	0,00	0,00	0	0
T3	1	Riego Directo	2,21	3,70	1,88	3	1
T3	2	Riego Directo	2,39	3,90	3,68	4	1
T3	3	Riego Directo	1,92	0,00	0,37	0	0
T3	4	Riego Directo	1,91	0,00	0,29	0	0
T3	5	Riego Directo	1,91	0,00	0,29	0	0
T4	1	Inmersión	0,23	0,00	0,03	0	0
T4	2	Inmersión	0,23	0,00	0,03	0	0
T4	3	Inmersión	0,82	0,00	0,09	0	0
T4	4	Inmersión	0,24	0,00	0,00	0	0

T4	5	Inmersión	0,46	0,00	0,04	0	0
T4	1	Riego Directo	1,13	0,00	0,22	0	0
T4	2	Riego Directo	1,35	0,00	0,27	0	0
T4	3	Riego Directo	0,34	0,00	0,04	0	0
T4	4	Riego Directo	0,99	0,00	0,18	0	0
T4	5	Riego Directo	0,71	0,00	0,13	0	0

Anexo 2

Base de datos de variables ambientales

HORA	TEMPERATURA (°C)	HUMEDAD (%)
8:00	22,4	91
20:00	23,2	90
8:00	22,4	91
20:00	23,5	91
8:00	22,4	90
20:00	25,2	80
8:00	22,2	94
20:00	21,5	84
8:00	23,1	81
20:00	22,6	86
8:00	23,9	80
20:00	23,6	84
8:00	23,9	80
20:00	22,2	95
8:00	22,1	92
20:00	22,8	80
8:00	22,1	91
20:00	23,2	90
8:00	22,4	91
20:00	23,2	90
8:00	22,1	91
20:00	23	87
8:00	22,3	91
20:00	23,2	87
8:00	23	91
20:00	23,2	90
8:00	23,4	80
20:00	24,1	89

8:00	23	99
11:00	36,2	29
20:00	20,2	97
8:00	22,4	98
11:00	38	27
20:00	22,1	97
8:00	22,2	98
11:00	32,5	68
20:00	22,1	97
8:00	22,5	97
11:00	38	62
20:00	22,8	96
8:00	27	82
11:00	38,7	60
20:00	24,8	96
8:00	25,1	97
11:00	30	72
20:00	19,9	98
8:00	23,5	97
11:00	28	68
20:00	20,4	98
8:00	21,4	98
11:00	31,4	74
20:00	22,4	96
8:00	21,2	98
11:00	30	81
20:00	20,4	98
8:00	24,1	98
11:00	28	74
20:00	20,3	97
8:00	22,4	97
11:00	29,4	85
20:00	22,3	90
8:00	21,1	98
11:00	32	48
20:00	23,3	98
8:00	22,4	97
11:00	30	52
20:00	21,1	96
8:00	27,8	90
11:00	31,6	25
20:00	21,1	98
8:00	23,2	94

11:00	37,2	55
20:00	26,6	97
8:00	23,4	98
11:00	39,2	54
20:00	20,4	97
8:00	23,2	97
11:00	42,7	62
20:00	24,2	96
8:00	24	96
11:00	38,9	60
20:00	24	98
8:00	26	97
11:00	39,9	58
20:00	23	98
8:00	30	75
11:00	42	53
20:00	22	95
8:00	22,3	98
11:00	38,4	67
20:00	21,9	97
8:00	22,1	97
11:00	38,1	52
20:00	23,1	96
8:00	22,1	96
11:00	38,8	60
20:00	23,4	96
8:00	23,7	97
11:00	30,4	72
20:00	24,6	95
8:00	23,4	97
11:00	35,2	68
20:00	24,5	95
8:00	23,4	97
11:00	42,5	55
20:00	24,5	94
8:00	23,5	96
11:00	45	58
20:00	26	95
8:00	24,8	90
11:00	29,6	72
20:00	24,5	93
8:00	22,4	98
11:00	40,5	64

20:00	20,4	96
8:00	22,2	96
11:00	35,8	34
20:00	23,1	95
8:00	22	90
11:00	40	52
20:00	24,7	83
8:00	20	98
11:00	24,5	29
20:00	22,1	94
8:00	23,2	90
11:00	38	40
20:00	22,4	92
8:00	24,2	82
11:00	37,1	35
20:00	23,9	92
8:00	22,2	96
11:00	35,8	34
20:00	23,1	95
8:00	22,4	92
11:00	27,5	64
20:00	22,6	90
8:00	22,4	90
11:00	28,4	72
20:00	20,6	96
8:00	24,3	62
11:00	29,1	54
20:00	22,1	90
8:00	24,1	81
11:00	36,4	52
20:00	22,2	85
8:00	23,2	80
11:00	39,3	13
20:00	24	82
8:00	24,2	72
11:00	37,7	36
20:00	23	92
8:00	24,1	90
11:00	40,3	10
20:00	24	82
8:00	28,6	65
11:00	39,9	31
20:00	24	75

8:00	20,8	97
11:00	37,4	15
20:00	21,8	94
8:00	23,6	80
11:00	38,5	42
20:00	22,1	80
8:00	28	55
11:00	36,7	39
20:00	24,4	78
8:00	27,2	20
11:00	32,8	23
20:00	24,2	35
8:00	24,3	45
11:00	32,5	10
20:00	23,9	39
8:00	20,5	68
11:00	31,3	14
<u>20:00</u>	<u>21,1</u>	<u>58</u>

Anexo 3

Vivero Casero



Anexo 4

Materiales



Nota: Este anexo muestra los materiales usados para manipular las vitroplantulas: Recipiente con agua, alcohol, guantes, pinza, caja petri y regla.

Anexo 5

Vitro plántulas phalaenopsis



Anexo 6

Selección de vitro plántulas





Anexo 7

Materiales de selección de sustratos

Balanza



Almacigueras



Sustratos



Higrómetro



Sumergido



Sin Sumergir



Anexo 8

Resultado final de las plántulas adaptadas



UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador

