

TÍTULO: Adaptación de vitroplantas de *Spathoglottis plicata* con diferentes sustratos en la Biofábrica de Pinar del Río.

Ing. Giap Nguyen Van
MSc. Maria Jo García.
MSc. René Hernández Gonzalo

RESUMEN

El trabajo se realizó en la Biofábrica de Pinar del Río, se estudiaron 5 sustratos diferentes: turba, humus de lombriz y tres mezclas S-III (CPHTCV) corteza de pino, SI-V (HTG) humus tierra grava y V (HTHJ) humus tierra hojarasca. Se realizó aplicaciones foliares de *Aloe vera* al 0, 4 y 6 % en todos los sustratos y se evaluó en las plantas los siguientes parámetros: supervivencia, Número de hojas, incremento de ellas, largo y ancho de las hojas, diámetro del tallo, longitud de la vitro planta y sus incrementos, todos ellos tuvieron mejores resultados en los sustratos con mezclas o combinados y los mejores resultados de la aplicación de *Aloe vera* presentan al 4 y 6%. A los 20 días se valoró la supervivencia del 100 % en todos los sustratos estudiados. Se obtuvo altos resultados en el número de raíces, longitud de las raíces para los sustratos combinados.

En relación al efecto de las aplicaciones foliares del extracto de *Aloe vera* se obtuvieron para la parte foliar una respuesta a incrementar los valores, debido al lento crecimiento de esta especie no hay diferencias significativas, pero si numéricamente se ve un incremento en las aplicaciones de *Aloe* al 4 y 6%.

En el análisis de componentes principales los parámetros que mayor influencia tienen en la adaptación de las orquídeas terrestres son el número y largo de las raíces así como la longitud de la planta y diámetro del tallo.

Palabras claves. *S. plicata*, orquídeas terrestres, aclimatización, sustrato, *Aloe vera*.

INTRODUCCION.

Las orquídeas han fascinado al mundo durante siglos y han sido consideradas como flores místicas; aunque algunos pueblos primitivos también la han utilizado con fines medicinales. En la Antigua Grecia eran vistas como un símbolo de virilidad.

Debido a su belleza y al elevado coste que alcanzan las orquídeas actualmente, son motivo de cultivo por particulares e industriales como flor cortada y como planta ornamental, por ello tiene una importancia económica a nivel mundial.

<http://www.infoagro.com/flores/flores/orquideas.htm>

Las amplias posibilidades que para la producción de orquídeas ofrecen nuestras condiciones naturales, hacen de aquéllas un excelente renglón de producción que sin lugar a dudas, merece una especial atención dentro del marco de la floricultura nacional, debiendo ser considerada de modo especial, como línea exportable de seguro mercado.(Alvarez ,1998).

Valerin (2005)señala que el éxito de la técnica de cultivo de tejidos vegetales como un instrumento en la propagación masiva de plantas, depende de la capacidad para manejar en el vivero, plantas a gran escala durante el periodo de adaptación; de esta manera se logra un alto grado de sobre vivencia a bajo costo. Señala además que la aclimatación: es el cambio gradual de las condiciones ambientales; en el caso concreto, es la transferencia de las plántulas de un ambiente aséptico cerrado a un vivero o campo, con menor humedad relativa y mayor intensidad de luz.

Las especies terrestres de orquídeas crecen en condiciones naturales en áreas o zonas bajas (bajías) y pantanos o en lugares boscosos donde el suelo presenta un bajo pH (entre 4, 5 y 5 y aún menos) con un elevado poder de retención de la humedad; estas características del medio natural, deben ser tomadas en

consideración al someter a cultivo esas especies; para las mismas puede prepararse un suelo jardinero (mezcla) que contenga los siguientes elementos:

Tierra franca (loam) 2 partes
Humus 1 parte

También puede utilizarse con igual propósito, una mezcla compuesta por:

Humus 1 parte
Turba ácida 1 parte
Musgo (Sphagnum) 2 partes

Estos elementos componen una mezcla muy ligera, con un elevado poder de retención de humedad, y un alto contenido de nutrientes. La exigencia en suelos está determinada por las características particulares de cada especie. Algunos cultivadores recomiendan el uso de una mezcla para las orquídeas terrestres, compuesta por 2 partes de humus y una parte de grava, a la que puede agregársele turba y musgo; otros recomiendan a esta mezcla polvo de huesos o harina de semilla de algodón, 58 g por cada 920 g de mezcla (Alvarez, 1998)

Se realizó el trabajo con el objetivo de determinar los mejores sustratos en la adaptación de vitro plantas de la orquídea *Spathoglottis plicata* .

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El estudio se realizó en la Biofábrica, que pertenece a la empresa de Semillas Varias del Ministerio de la Agricultura. Ubicada en la Avenida Borrego, Reparto Hermanos Cruz, de la Ciudad de Pinar del Río.

Con una Longitud: 83° '41'' Oeste y una, Latitud: 22 ° '24'' Norte. En el periodo de diciembre del 2008 a febrero del 2009. Los datos climáticos se ofrecen en el anexo 1.

Material vegetal

Se utilizó vitro plantas de *Spathoglottis plicata* micropropagadas en la Biofábrica de P.R.

Fase de endurecimiento

Se sacó 10 potes con 10 vitro plantas de la especie estudiada y se colocó en un cuarto lo más estéril posible y se fue destapando poco a poco de la forma siguiente:

Se lavó bajo la llave hasta eliminar todos los restos de agar. Posteriormente fueron tratadas con Cuproflow a una concentración de 4% durante 5 minutos.

Fase de aclimatización

Para el ensayo de aclimatización fueron seleccionadas vitroplantas de la especie en estudio, con un tamaño promedio de 3.2 cm, y dos raíces como promedio, vigorosas. Se plantaron en bolsas de polietileno de 10 x 15 cm con los diferentes sustratos que se ofrecen en la tabla.1 Las características químicas en (anexo 2).

Tabla 1

TRATAMIENTOS	SUSTRATOS
S-I	TURBA
S-II	HUMUS DE LOMBRIZ
S-III	CPHTCV (cáscara de pino + humus+ tierra+ carbón vegetal)
S-IV	HTG (humus +tierra + grava)
S-V	HTHJ (humus + tierra+ hojarasca)

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 5 tratamientos y 3 repeticiones y 6 plantas por repetición en total 90 vitro plantas.

Atenciones realizadas

Se colocó en el umbráculo cubierto con una malla protectora (sarán), que garantizó un 50 – 70% de la reducción de la intensidad luminosa.

Se empleó el riego por micro aspersor de forma tal que se garantizó una humedad adecuada, aplicando riegos diarios de un minuto cada ocho minutos durante todo el periodo.

Metodología de Evaluación

Se evaluaron 4 plantas testigo con 0 % Aloe vera y 4 plantas en cada tratamiento.

Las observaciones realizadas fueron las siguientes

1. Supervivencia
 2. Longitud de la vitro planta. cm
 3. Número de Hojas
 4. Largo de las hojas cm
 5. Ancho de Hojas cm
 6. Diámetro del tallo. mm
 7. Número de la raíces.
 8. Longitud de las raíces. cm
 9. Incremento Longitud vitro planta, largo y ancho de las hojas, número de hojas.
- Supervivencia a los 20 días se calculó el porcentaje de todas las plantas vivas.

Análisis Biométrico

Los datos fueron procesados mediante un programa computarizado. Para ello se utilizó el paquete estadístico Statistical Package for Social Science (SPSS), para Windows, versión 13, (2004), con el cual se realizaron los siguientes análisis: Se evaluaron los datos para determinar si cumplían los principios de uniformidad y normalidad, en caso de que no se cumplían los mismos se procedió a realizar transformaciones. Se realizó un análisis de correlación múltiple para determinar el nivel de relación entre los parámetros evaluados para posteriormente realizar un análisis de conglomerado y agrupar los tratamientos acorde a su comportamiento, un análisis de componentes principales y un análisis de varianza; Para los tratamientos que presentaron diferencia significativa, se realizó la prueba de Turkey entre 1 y 5 % de probabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSION

Porcentaje de Supervivencia

Tabla 2 Porcentaje de supervivencia

Sustratos	Sustratos	% Supervivencia.
Turba	S I	100%
Humus de lombriz	S II	100%
CPHTCV	S III	100%
HTG	S IV	100%
HTHJ	S V	100%

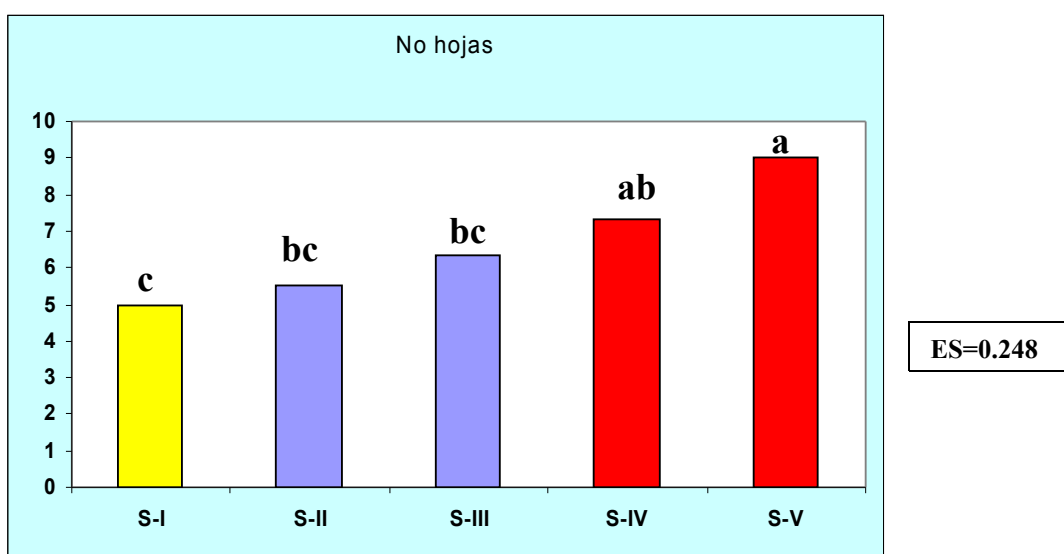
En la tabla 2 se muestra el porcentaje de supervivencia en los diferentes sustratos estudiados se observó un 100 % en todos los sustratos. Nieto (2008) señaló que en cuanto al tamaño inicial de la vitro planta, hay una tendencia a superar en mayor proporción el periodo de aclimatización (expresado como porcentaje) en las plantas de tamaño grande y mediano sometidas a pre acondicionamiento.

Éstas presentaron valores de 95,12% y 89,71%, respectivamente. Mientras que las no preacondicionadas registraron menor capacidad de sobrevivencia, con 76,36% y 73,49%, respectivamente. Se evidenció que las pequeñas de ambos tratamientos fueron las que menos sobrevivieron.

Torres (1997), quien trabajó con *Cattleya lueddemanniana* y *C. mossiae* Parker, en cámara húmeda (CH) obtuvo a los 30 días, un porcentaje de sobrevivencia de 87.5 % y 93.75 %, respectivamente. De igual manera Rodríguez et al., (2005), quienes trabajando con las orquídeas *Oncidium lurium* y *Encyclia phoenicea* en CH reportaron una sobrevivencia de 99% y 86%, respectivamente. Sin embargo difieren de lo encontrado por Moreno (2001), quien señaló una sobrevivencia del 70% en *Dendrobium* x híbrido en la semana 5. Así mismo Mogollón (2003), quien trabajando con *Dieffembachia maculata* en CH obtuvo un 100% de sobrevivencia, aunque esta especie no pertenece a la familia Orchidaceae, es una planta ornamental.

Comportamiento del número de hojas y su incremento en los diferentes sustratos

Al evaluar el número de hojas y su incremento en el período de tres meses en los diferentes sustratos gráficos 1 y 1a se aprecia que los tratamientos IV y V no difieren significativamente entre si siendo el de peor comportamiento el sustrato 1 en la evaluación del incremento se aprecia que las orquídeas plantadas en el sustrato V son las que mejor incremento presentaron en el número de hojas y la de peor comportamiento el Sustrato 1 (S-I)



Letras iguales no reflejan diferencias significativas para Prueba Turey $p < 0.05$

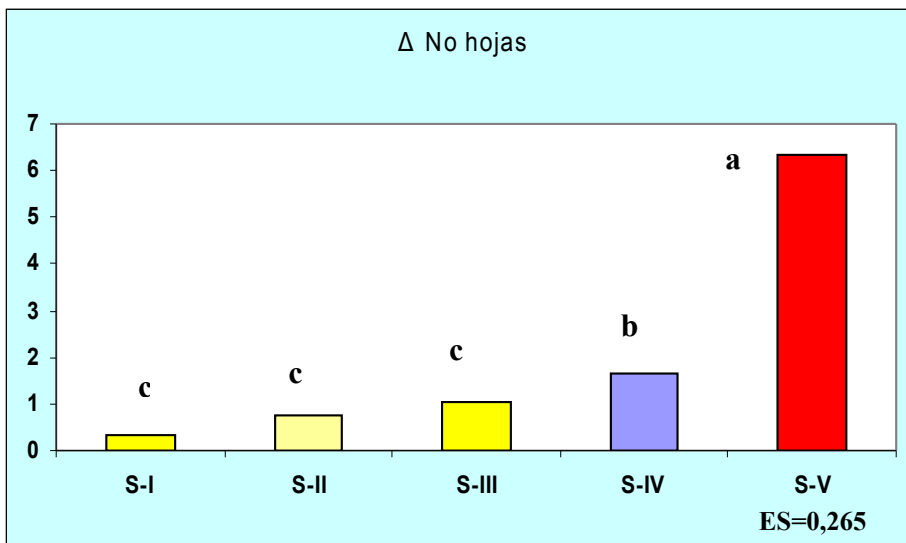
Grafico 1 Comportamiento del número de hojas en los diferentes sustratos

Como se puede observar en los gráficos 1 y 1a los métodos combinados o mezclas tuvieron un mejor efecto para los parámetros analizados. Las orquídeas de hábito terrestre se adaptan relativamente bien a un buen número de sustratos, siempre y cuando tengan buen drenaje (Jiménez y Caballero, 1990). Las plantas de *Spathoglottis* tienen un vigoroso sistema radical y requieren contenedores de profundidad; no se recomiendan macetas llanas o bandejas (OGLESBY PLANTAS INTERNATIONAL, 1998).

En el cultivo de orquídeas terrestres se ha sugerido emplear sustratos ricos en materia orgánica, en un 50% o más, y con buen drenaje y aeración. Para ello ha

sido utilizada la turba, así como una mezcla de ésta, con corteza de pino y perlita en partes iguales. Poole (1977) indicó la posibilidad de utilizar como sustrato una mezcla de turba y perlita en proporción 1:1 (v/v) para el cultivo de epifitas y terrestres, pero advirtió que el riego debe ser ajustado cuidadosamente para evitar excesos de humedad. También suele emplearse el aserrín de coco.

Es necesario utilizar un sustrato con características físicas y químicas tales, que proporcione un adecuado soporte a la planta, permita la difusión de oxígeno a las raíces y sirva como fuente de suplencia de agua y nutrientes esenciales (Jiménez, 1990).



Letras iguales no reflejan diferencias significativas para Prueba Turkey $p < 0.05$

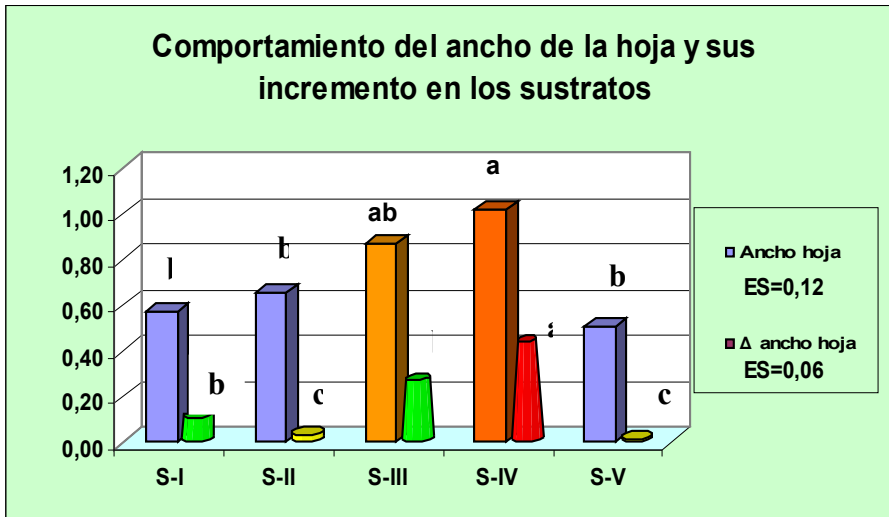
Gráfico 1a Comportamiento del incremento del número de hojas en los diferentes sustratos

En trabajos de aclimatización de vitro plantas de helecho encontró que el mejor sustrato al formado a partir de mezclas entre la turba y el suelo obteniendo mayor número de frondes y largo de éstas. Morales et al. (2003).

Morales et. Al., (2008) al evaluar el efecto de diferentes sustratos en la aclimatización de vitro plantas de Anturium encontró diferencias entre los sustratos

.sobresaliendo el conformado por turba ácida + estiércol vacuno + suelo (3/5.5/1), en cuanto a la supervivencia y composición de la mota para el trasplante a vivero

Efecto de diferentes sustratos en el ancho y su incremento



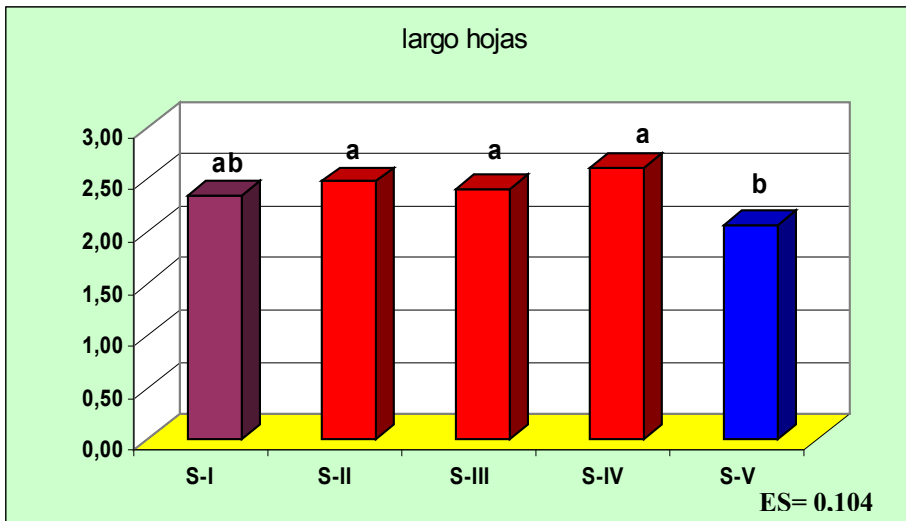
Letras iguales no reflejan diferencias significativas para Prueba Turkey $p < 0.05$

Grafico 2 Comportamiento del ancho de las hojas y su incremento en los diferentes sustratos

En el gráfico 2 se muestran los resultados del ancho de las hojas y su incremento se obtuvo el mejor resultado en el sustrato IV (HTG), el cual es una mezcla (con humus+ tierra y grava), mientras los sustratos SI(Turba) SII Humus de lombriz el SIII(CPHTCV) son los de peor comportamiento.

En el estudio sobre el uso de abonos orgánicos en el cultivo de orquídeas, el objetivo principal no es determinar los requisitos de cada uno de los elementos, sino más bien, la manera de utilizar eficazmente los desechos de plantas y animales disponibles. Sin embargo, se ha observado a menudo, que estas plantas en maceta, crecen bien en la fase inicial, pero con el tiempo las raíces comienzan a descomponerse. Esto probablemente es el resultado de la desintegración del abono que causa la obstrucción de los macro y micro poros. Esto puede explicar en parte, el porqué al aplicar niveles más altos de abono orgánico disminuye constantemente el crecimiento y el rendimiento de la planta (Hew, 2004).

Respuesta del largo de las hojas a los diferentes sustratos



Letras iguales no reflejan diferencias significativas para Prueba Turkey $p < 0.05$

Grafico 3 Efecto de los sustratos en el largo de las hojas

Como se observa en el grafico 3 los mejores sustratos para el largo de las hojas de las vitro plantas de *S. plicata* son los SIV, SIII, SII que no difieren del SI y este a su vez del SV

Álvarez (1998) recomienda para las especies de orquídeas terrestres diferentes sustratos planteando que las especies terrestres crecen en condiciones naturales en áreas o zonas bajas (bajías) y pantanos o en lugares boscosos donde el suelo presenta un bajo pH (entre 4, 5 y 5 y aún menos) con un elevado poder de retención de la humedad; estas características del medio natural, deben ser tomadas en consideración al someter a cultivo esas especies; para las mismas puede prepararse un suelo jardinero (mezcla) que contenga los siguientes elementos:

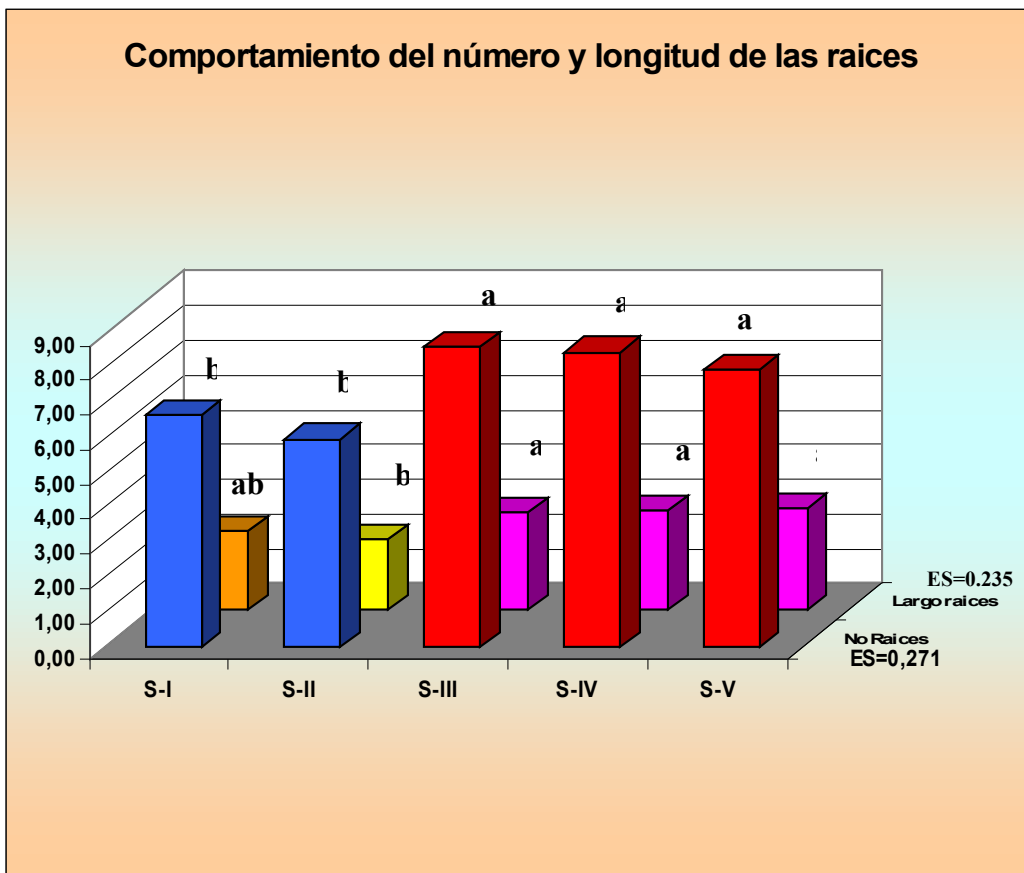
Tierra franca (loam) 2 partes + Humus 1 parte

También puede utilizarse con igual propósito, una mezcla compuesta por:

Húmus 1 parte + Turba ácida 1 parte + Musgo (*Sphagnum*) 2 partes

Estos elementos componen una mezcla muy ligera, con un elevado poder de retención de humedad, y un alto contenido de nutrientes. La exigencia en suelos está determinada por las características particulares de cada especie. Algunos cultivadores recomiendan el uso de una mezcla para las orquídeas terrestres compuesta por 2 partes de humus y una parte de grava, a la que puede agregársele turba y musgo; otros recomiendan adicionar a esta mezcla polvo de huesos o harina de semilla de algodón, 58 g por cada 920 g de mezcla.

Efectos de los diferentes sustratos en el número y longitud de las raíces



Letras iguales no reflejan diferencias significativas para Prueba Turkey $p < 0.05$

Grafico 4 Efecto de los sustratos en el número y longitud de las raíces

En el gráfico 4 se muestran los resultados del efecto de los sustratos en el número y longitud de las raíces se observó que respondieron mejor para estos parámetros los sustratos S III, SIV y SV los cuales son sustratos combinados o mezclas

Por esta razón son preferidos como componentes para su elaboración materiales inertes o aquellos en las cuales el proceso de obtención garantice la mayor desinfección posible como es el humus de lombriz y el compost.

Las orquídeas terrestres generalmente se pueden cultivar muy bien en una mezcla de tierra de hoja, carbón vegetal y un poco de arena. (Vilchez et al., 2007)

Álvarez (1998) recomendó que para las especies de orquídeas terrestres se puede mezclar con el compost pequeños pedazos (cisco) de carbón vegetal, completando la mezcla con musgo (Sphagnum) bien preparado y limpio, en la proporción de 2/5 partes, o el 50 % aproximadamente; este medio de cultivo puede variar entre ciertos límites, siempre que se mantenga una abundante porosidad y poder de retención de la humedad.

Respuesta de la longitud y su incremento a los diferentes sustratos

Tabla 3 Efecto de los sustratos en la longitud e incremento de la longitud de las plantas

Sustrato	Long. Planta UM cm	sig	Δ long. Planta UM mm	Sig
S-I	8,03	a	0,03	c
S-II	6,69	a	0,23	b
S-III	7,00	a	0,50	a
S-IV	7,20	a	0,53	a
S-V	7,44	a	0,44	a
ES	0,218		0,048	

Letras iguales no reflejan diferencias significativas para Prueba Turkey $p < 0.05$

Como se muestra en la Tabla 3 No hay diferencias significativas para la longitud de las vitro plantas en todos los sustratos estudiados, y para el incremento de la longitud, la respuesta fue mejor en los sustratos combinados, es bueno destacar

que estas plantas tuvieron un crecimiento muy lento que es un comportamiento genético de la planta.

Espinosa (2005) señala *in vitro* plantas de *Rhynchostele* una *orchidaceae*, fueron extraídas de los envases, enjuagadas con agua potable para eliminar restos de medios de cultivo y ventiladas durante dos días en un sitio fresco (18 °C) protegido de la luz solar directa. A continuación fueron plantadas en vasos de unicel de 10 x 7 cm con el fondo ocupado por tezontle para permitir drenaje y rellenos con una mezcla por partes iguales de turba (peat mos), agrolita y corteza finamente molida, los que fueron colocados dentro de bolsas de polietileno con una abertura superior que permitiera una ventilación adecuada.

A 8 meses de haber sido retiradas del cultivo *in vitro*, las plántulas se encuentran en buenas condiciones, las tallas alcanzadas son de 12 a 15 cm, con nuevos brotes.

Aguilera et al. (1999) obtuvieron mayor altura de las plantas y mayor número de hojas por planta cuando emplearon estiércol vacuno como sustrato en la aclimatización de plantas *in vitro* de ñame.

CONCLUSIONES

Una vez analizados los resultados podemos arribar a las siguientes conclusiones:

- En la fase de aclimatización se pueden utilizar todos los sustratos estudiados al lograrse mayor porcentaje de sobrevivencia en la especie de *Spathoglottis plicata*.
- Se evidenció que los sustratos combinados o sea las mezclas dieron mejores resultados tanto para la parte foliar número de hojas y su incremento, ancho y largo de las hojas y sus incrementos, diámetro del tallo y la longitud de las *in vitro* plantas y su incremento, así como para el sistema radical número de raíces y

longitud de las mismas. Siendo los sustratos S-IV (HTG) y el S-V (HTHJ) donde las vitro plantas se aclimatizaron mejor por su mayor respuesta morfológica.

RECOMENDACIONES

Utilizar esta metodología para la adaptación de vitro plantas de *Spathoglotis plicata* orquídea terrestres.

BIBLIOGRAFIA

1. Agramonte, D.; F. Jiménez M. A.y Dita A. (1998) *Aclimatización en Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Editorial Instituto de Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba. 400 pp.
2. Antón G.N., Retamar P.N y Durán A.J.M.(2000) *Las Orquídeas Dpto. de Producción Vegetal ETSI Agrónomos. Ciudad Universitaria Madrid*.
3. APROCSAL (1994) *De Comunidad a Comunidad. Boletín No. 7 Asociación de promotores*.
4. Alvarez P.M. (1998) *Floricultura Cooperativa Agroindustrial "Gladius" Nicaragua*. Disponible en: <http://www.cablenet.com.ni/~f1f2/>
5. BURKESBACKYARD. 2000. "Spathogottis plicata". Disponible: <http://www.burkesbackyard.com.au/search.php?kw=spathogottis+plicata&Submit.x=21&Submit.y=6>. Consulta realizada el día 24 de Octubre del 2007.
6. Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. [Universidad](#) de Granma. Bayamo. Granma. Cuba.
7. Cruz das Almas.(1993) *Compendiado en: Musarama (FR. 6(3): pág. 12*.

8. -DESERT-TROPICALS. 2005. *Philipine Ground Orchid*. Disponible en:
http://www.deserttropicals.com/Plants/Orchidaceae/Spathoglottis_plicata.html.
Consulta realizada el 13 de Junio del 2007.
9. EBSCOHOST. 2007. *Clasificación de Spathoglottis*. Disponible:
<http://web.ebscohost.com/ehost/pdf?vid=6&hid=102&sid=763ede14-8d4f-486b-b9e0-1c3fa9195c40%40sessionmgr107>. Consulta realizada el día 12 de Febrero del 2008.
10. Espinosa G. A, M Aguirre L.E. (2005) *Proliferación de Rhynchostele bictoniense (orchidaceae) a partir de semillas y explantes de material cultivado "in vitro"*. Laboratorio de cultivo de Tejidos Vegetales UBIPRO. México
11. Hartman, H y Kester, D 1989 *Propagación de plantas. Principios prácticos* C.E.C.S.A México.
12. James, C (2008) [Cultivo de orquideas en casa](#) 15:36 Blogspot.com
13. Kolloge, s. (1997) *Stainable agriculture. Agenda 2-The implementation of the action programme by the E.U. common agricultural policy. Plant reseach and development. Vol 45:8-21.*
14. Kozaj, T., H. Oki y k. Fujiwara, (1988) *Effects of CO2 Enrichment and sucrose concentration under high photosynthetic photon fluxes on growth of tissue cultured cymbidium plantlests during the preparati3n stage*. En: G. Dúcate, M. Jacob y A. Simeon (Eds.), *Symposium on Plan Micropropagati3n in Horticultural Industries, Preparati3n, Hardening and Aclimatization Processes*. pp. 135-143. Arlon, Belgium.
15. Morales, C./et al/ (2008) *Efecto del sustrato en la aclimatizaci3n del cultivo de anturio anthurium andreanum*) *Cultivos Tropicales*, vol. 29, no. 3, p. 75-79

16. *Spathoglottis plicata* Blume Philippine ground orchid. Disponible:
<http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=SPPL>. Consulta realizada el día 24 de Octubre del 2007
17. Nieto L.C.A. 2008 Aclimatización y desarrollo en vivero de *Dendrobium lorrie mortimer* cultivado en seis sustratos Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo Cabudare
18. Noriega (2001) expresan que el proceso de producción de humus de lombriz se conoce como "Lombricultura o Vermicultura" y la lombriz más eficiente utilizada en este proceso es la Roja Californiana (*Eisenia foetida*).
19. ORCHID HUNTER. 2002. Orchid Gallery *Spathoglottis plicata* Disponible:
http://www.pbs.org/wgbh/nova/orchid/gall_12.html. Consulta realizada el día 24 de Octubre del 2007.
20. Preece, J. E. y Sutter, E. G. (1991) "Acclimatization of micropropagated plant to the greenhouse and field". In: Debergh P.C., Zimmerman, R.H. Micropropagation technology and application. Editorial Dordrecht Kluwer Academic Press. pp. 71 – 93.
21. PIERIK R.L.M. 1989. Cultivo in vitro de las plantas superiores.
22. RODRÍGUEZ, L. Et al. (2005) Producción y recuperación de orquídeas silvestres cubanas. [En línea]. Cuba. ISBN 959-250-156-4. Disponible en:
www.dama.gov.co
23. STEWART, J.; Griffiths. 1995. Manual of Orchids. Edit. Timber. Pp xxxi y 329.

24. TORRES, J. 2006. *Bionotas El Cultivo Comercial de las Orquídeas*. Mimeografiado de 28 paginas.
25. Torres A.J.G. (1997) *Micropropagación clonal masiva de cattleya ueddemanniana rchb.f. y c mossiae parker ex hooker* Tesis 118p.
26. Torres S J C 2008 *Efecto de la aclimatización y la aplicación de dos fertilizantes comerciales sobre el crecimiento vegetativo en vivero de las orquídeas terrestres Spathoglottis gracilis y Spathoglottis plicata provenientes de cultivo in vitro. Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo Cabudare*
27. Valerin A. A.T.(2005) *Características de las plántulas producidas in vitro y su aclimatación Ti Orquideas*
28. <http://orchid.nireblog.com/>
29. <http://www.utpl.edu.ec/ecologia/wp-content/uploads/2008/05/adaptacion-bromelias.pdf>