

ESTUDIO DE LA ORQUÍDEA (*Cattleya nobilior*) COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA CIUDAD DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA

STUDY OF THE ORCHID (*Cattleya nobilior*) AS ATMOSPHERIC POLLUTION BIO-INDICATOR IN THE CITY OF SANTA CRUZ DE LA SIERRA

CASTRO ENCINAS C. A.

RESUMEN

La familia Orchidaceae ha sido catalogada como el principal bioindicador mostrando gran sensibilidad a los cambios ambientales (temperatura, humedad, aire, suelo y luz), asimismo a factores ambientales actuales como la contaminación atmosférica. La Orquídea (*Cattleya nobilior*) destaca entre las demás debido a que tiene una amplia genética, estructura, belleza, durabilidad de sus flores, tiene una gran capacidad para detectar cambios en el ambiente (temperatura, humedad, aire, suelo y luz) en el que se encuentra gracias a su mayor sensibilidad. Además, puede percibir las alteraciones ambientales de una manera tangible. Esta sensibilidad se la puede ver cuando la calidad del aire en la que ésta se encuentra es mala, por este motivo a esta orquídea se define como el mejor bioindicador para la calidad de aire. En este trabajo se compiló información literaria que fue revisada, con el propósito de aportar una visión general sobre la morfología, fisiología y ecología de la Orquídea (*Cattleya nobilior*). Dada la gran importancia que presenta la orquídea (*Cattleya nobilior*) como bioindicador de contaminación atmosférica, se desarrolló el presente trabajo en la Escuela Militar de Ingeniería (EMI UA.SC.) y el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Jardín Botánico Municipal, con el objetivo de buscar la elaboración de un "Mapa de Calidad Ambiental en la Ciudad de Santa Cruz de la Sierra". El trabajo de investigación está dividido en tres fases, se realizó la primera fase del trabajo de investigación. En la que se realizó un estudio sobre los diferentes medios de cultivo que se utilizan para la propagación in vitro de la orquídea (*Cattleya nobilior*). Se probaron varios medios de cultivo (ocho tratamientos) en la etapa de multiplicación y se realizaron las evaluaciones a distintas variables (tamaño de planta, número de hojas, número de raíces) cada quince días. La evaluación se realizó por un periodo de dos meses. De acuerdo al análisis realizado se puede concluir que el mejor tratamiento para la etapa de multiplicación y enraizamiento es el T4, ya que este mostró los mejores promedios de crecimiento en las variables tamaño de planta, número de hojas y número de raíces. Este tratamiento contiene mayor cantidad de hormona que los demás, posee 2.5 mg/l de BAP (Bencil Animo purina) y 70 gr/l de plátano (*Musa paradisiaca*) con cáscara, aparte de los componentes básicos. De la misma manera el tratamiento T5, es el mejor después del T4, ya que presentó excelentes promedios en las tres variables evaluadas, tamaño de planta, número de hojas, número de raíces. Este posee 1 mg/l de BAP (Bencil Animo purina) y 100 ml de agua de coco (*Cocos nucifera*), además de los componentes básicos. Es el tratamiento que contiene menor cantidad de hormona y el más económico. En base a esto se elaboró un protocolo, es decir, un procedimiento para la propagación in vitro de la orquídea (*Cattleya nobilior*).

ABSTRACT

The Orchidaceae family has been classified as the main bioindicator showing great sensitivity to environmental changes (temperature, humidity, air, soil and light), as well as current environmental factors such as air pollution. The Orchid (*Cattleya nobilior*) stands out among the others because it has a wide genetics, structure, beauty, durability of its flowers, has a great capacity to detect changes in the environment (temperature, humidity, air, soil and light) in the one that is thanks to its greater sensitivity. It has the ability to perceive environmental alterations in a tangible way. This sensitivity can be seen when the quality of the air in which it is found is bad, for this reason this orchid is defined as the best bioindicator for air quality. In this work we compiled

PALABRAS CLAVE

Bioindicador, *Cattleya nobilior*, Propagación in vitro.

KEYWORDS

Bioindicator, *Cattleya nobilior*, In vitro propagation.

ESTUDIO DE LA ORQUÍDEA (*CATTLEYA NOBILIOR*) COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA CIUDAD DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA

literary information that was revised, with the purpose of providing an overview on the morphology, physiology and ecology of the Orchid (*Cattleya nobilior*). Given the great importance of the orchid (*Cattleya nobilior*) as a bioindicator of atmospheric pollution, the present work was developed in the Military School of Engineering (EMI UASC.) and the Plant Biotechnology Laboratory of the Municipal Botanical Garden, with the objective to seek the elaboration of an "Environmental Quality Map in the City of Santa Cruz de la Sierra". The research work is divided into three phases, carried out the first phase of the research work. In which a study was carried out on the different culture media that are used for the in vitro propagation of the orchid (*Cattleya nobilior*). Several culture media (eight treatments) were tested in the multiplication stage and evaluations were performed on different variables (plant size, number of leaves, number of roots) every fifteen days. The evaluation was carried out for a period of two months. According to the analysis, it can be concluded that the best treatment for the multiplication and rooting stage is T4, since this showed the best growth averages in the variables plant size, number of leaves and number of roots. This treatment contains more hormone than the others, it has 2.5 mg / l BAP (Bencil Animo Purine) and 70 g/l banana (*Musa paradisiaca*) in shell, apart from the basic components. In the same way the T5 treatment is the best after T4, since it presented excellent averages in the three variables evaluated, silver size, number of leaves, number of roots. It has 1 mg / l BAP (Benzyl Animo purine) and 100 ml coconut water I (*Cocos nucifera*), in addition to the basic components. It is the treatment that contains less amount of hormone. Based on this, a protocol was developed, ie a procedure for the in vitro propagation of the orchid (*Cattleya nobilior*).

INTRODUCCIÓN

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el medio de cultivo *in vitro* más adecuado para la propagación de la orquídea (*Cattleya nobilior*) dada la importancia de la especie como bioindicador de contaminación atmosférica en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar botánicamente la orquídea (*Cattleya nobilior*) en sus aspectos morfológicos, fisiológicos y ecológicos.

Describir el método de propagación *in vitro* para la orquídea (*Cattleya nobilior*).

Evaluar los medios de cultivo *in vitro* para la propagación de la orquídea (*Cattleya nobilior*).

La propagación de la Orquídea (*Cattleya nobilior*), dada la importancia de la especie como bioindicador de contaminación atmosférica, depende de los medios de cultivo *in vitro*, los cuales garantizarán la eficacia en la multiplicación de la especie.

DISEÑO EXPERIMENTAL

La evaluación del presente trabajo se realizó bajo el Diseño Completamente al Azar, donde se efectuó una comparación de medias y los tratamientos corresponden al tipo envase empleado para lo cual se aplicó el ANOVA de un factor. Los valores de "F" que reporten diferencia estadística, fueron comparados mediante la prueba Duncan y Tukey.

TRATAMIENTOS

Para la realización del siguiente trabajo, se estableció los siguientes tratamientos, los cuales están establecidos de acuerdo a la etapa con la que se trabaje. Los cuales fueron los siguientes:

Tratamientos de la Etapa de multiplicación:

En esta fase se trabajó con un solo medio de cultivo que es MS (Murashige y Skoog), donde lo único que varió de todos los componentes del medio de cultivo fue la hormona BAP (Benzil

Amino Purina), en la cual varió la concentración varias veces. Este ensayo tuvo de 20 repeticiones (frascos), dentro de los cuales en cada frasco hubo cuatro muestras vegetales.

Las variables que se evaluaron fueron las siguientes: el tamaño de la planta, el número de hojas, el número de raíces. Las tomas de muestras de nuestro ensayo se registraron a partir de cómo se manifestó el material biológico, es decir, en cuanto hizo contacto con el medio de cultivo *in vitro*, se tomaron registros del comportamiento de acuerdo a parámetros establecidos por el método de cultivo *in vitro* cada 15 días durante 2 meses.

FASE DE MULTIPLICACIÓN			
Medio de cultivo	MS	100%	
Trat.	Medio de cultivo	Hormona (mg/l)	Hormona (mg/l)
T0	MS	BAP (0)	ANA (0)
T1	MS-BANANO 70 g/l con cascara	BAP (1)	ANA (0.5)
T2	MS-BANANO 70 g/l con cascara	BAP (1.5)	ANA (0.5)
T3	MS-BANANO 70 g/l con cascara	BAP (2)	ANA (0.5)
T4	MS-BANANO 70 g/l con cascara	BAP (2.5)	ANA (0.5)
T5	MS-AGUA DE COCO	BAP (1)	ANA (0.5)
T6	MS-AGUA DE COCO	BAP (1.5)	ANA (0.5)
T7	MS-AGUA DE COCO	BAP (2)	ANA (0.5)
T8	MS-AGUA DE COCO	BAP (2.5)	ANA (0.5)

Cuadro 2. Tratamientos Etapa Multiplicación

ESTABLECIMIENTO DEL ENSAYO

Etapas para la propagación del cultivo *in vitro*:

Etapa 1 Establecimiento: Se toma en cuenta desde que se coloca la semilla al medio de cultivo *in vitro* hasta que esta germina.

Etapa 2 Multiplicación y enraizamiento: en esta fase la planta se debe multiplicar y desarrollar, deben aparecer hojas. Además, en esta fase también se deben desarrollar las raíces de la planta para que posteriormente se la saque al exterior y se aclimate, es decir, el enraizamiento es una prolongación más de esta etapa.

Ubicación

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones del "Laboratorio de Biotecnología Vegetal" del Jardín Botánico Municipal, ubicado en la carretera a Cotoca distante a 8 km de la ciudad de Santa Cruz.

CLIMA

Las condiciones ambientales dentro del laboratorio deben ser óptimas, las cuales presentan las siguientes variaciones de temperaturas (25 °C), intensidad luminosa -1000 lux (lámparas fluorescentes), humedad relativa del 60-70% y un periodo de 16 horas luz, 8 horas oscuridad.

MATERIAL EXPERIMENTAL

Especie Vegetal

Para la instalación del ensayo de laboratorio, se realizó en base a material vegetal de la Orquídea (*Cattleya nobilior*) que fueron provistos por el Jardín Botánico Municipal de Santa Cruz de la Sierra.

RESULTADOS

Caracterización Botánica de la Orquídea (*Cattleya Nobilior*) en sus Aspectos Morfológicos, Fisiológicos y Ecológicos

CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

ETIMOLOGÍA

Cattleya: Género descrito por el orquideólogo inglés John Lindley en 1821 y dedicado a William Cattley de Herts (Inglaterra), en reconocimiento al mérito que tuvo de cultivar y hacer florecer la primera *Cattleya* en Europa, (Vásquez Ch. & Ibisch, 2004).

Nobilior: Epíteto latino que significa "la más noble".

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La orquídea (*Cattleya nobilior*), presenta la siguiente Clasificación taxonómica, (Vásquez Ch. & Ibisch, 2004):

Reino	: <i>Plantae</i>
Orden	: <i>Asparagales</i>
Familia	: <i>Orchidaceae</i>
Subfamilia	: <i>Epidendroideae</i>
Tribu	: <i>Epidendreae</i> ,
Subtribu	: <i>Laeliinae</i>
Alianza	: <i>Cattleya</i>
Subgénero	: <i>Rhizantha</i>
Especie	: <i>Cattleya nobilior</i> Rchb. f. 1883
Nombre Común	: Flor de Piedra.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Dentro de la morfología de la orquídea (*Cattleya nobilior*), podemos ver que tiene las siguientes características:

Epifitas: Estas orquídeas no obtienen nada del árbol para su crecimiento, sino que simplemente aprovechan del porte elevado y se benefician de estar más cerca del aire y de la luz. Estas obtienen los nutrientes de la humedad del aire y de los restos que se recogen en las axilas de las ramas o bajo los musgos por los que penetran sus raíces.

Pseudobulbo: Produce pseudobulbos o bulbos falsos, desarrollan un tipo de crecimiento simpódico. Está compuesto de un material fibroso que puede retener gran cantidad de agua, conservando la energía y almacenando humedad.

Hojas: Produce una o dos hojas semirrígidas, carnosas, varían de color pueden ser desde entre verde claro y oliva oscuro.

Raíces: Son únicas dentro del reino vegetal. Son gruesas y blancas. Consisten en un núcleo interior delgado, con una cubierta exterior absorbente que se compone de varias capas de células muertas. Esta capa, que empapa el agua a través de su superficie, se denomina velamen y progresa por detrás de una punta en crecimiento verde.

Flores: Son generalmente hermafroditas, con ambos sexos en la misma flor. Consta de 3 sépalos y tres pétalos, estando uno de ellos o todos modificados. La modificación del pétalo en forma de labio se conoce como "labelo".

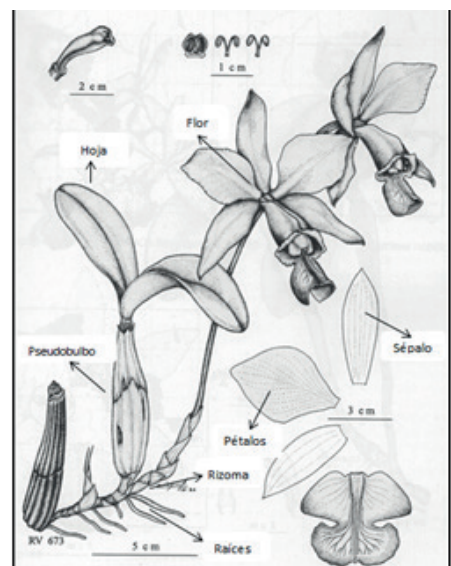


Figura 1. Morfología De La Orquídea (*Cattleya nobilior*) (Vásquez Ch. & Ibisch, 2004).

Opuesto al labelo está la columna que es la estructura reproductiva formada por la infusión de los órganos femeninos y masculinos. Su flor es de color rosado, atractivas, con los segmentos abiertos;

ESTUDIO DE LA ORQUÍDEA (*CATTLEYA NOBILIOR*) COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA CIUDAD DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA

sépalos parecidos entre sí, los laterales ligeramente oblicuos; pétalos generalmente más anchos que los sépalos; labelo libre. Florece en una inflorescencia de 8 cm de largo, delgado, con 1 a 5 flores extremadamente fragantes. Y su temporada de floración se encuentra entre septiembre y octubre de cada año. A finales de cada agosto ya se puede la planta con brotes listos para florecer.

Semillas: Las semillas de *Cattleya nobilior* son muy pequeñas, teniendo millones de ellas en cada cápsula de la planta. Bajo el microscopio las semillas presentan una testa y un gran embrión en el centro, teniendo la semilla aproximadamente 0,80 mm de largo y 0,13 mm de ancho, (Knaudt & Benavent, 2011).

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

Según Navarro & Maldonado (2005) dentro de la fisiología de esta orquídea podemos ver lo siguiente:

Fotosíntesis: La Orquídea (*Cattleya nobilior*) es denominada una planta CAM (Metabolismo Ácido Crasuláceo), que controla la transpiración negativa durante el día, manteniendo los poros cerrados y abriéndolos durante la noche, que es cuando los poros se abren para recibir la humedad del rocío. Estas plantas ingresan el dióxido de carbono (CO₂) por las estomas, lo transforman en malato y lo acumulan en las vacuolas de las células en el mesófilo de las hojas que por eso son más gruesas y al amanecer poseen un cierto sabor ácido. Cuando finaliza la noche, se cierran las estomas y con presencia de luz, realizan la fotosíntesis como cualquier otro tipo de planta

Nutrientes: Ésta orquídea, tiene un hábito de crecimiento epífita, por lo que han evolucionado en desarrollando raíces especializadas que además de darles soporte, los permiten absorber agua y nutrientes del ambiente en forma muy eficiente a través de una capa de células muertas llamada velamen que es muy esponjosa y llena de huecos.

CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS

Descripción del hábitat natural: Según Navarro y Maldonado (2005), Biogeográficamente podemos ubicar a la orquídea (*Cattleya nobilior*) en Bolivia en las siguientes regiones:

Región Brasileño-paranaense, en la provincia Cercado (bosque seco chiquitano).

Región Chaqueña, en la provincia del chaco boreal (parte del bosque chaqueño de Paraguay).

En nuestro país el área de distribución de la *Cattleya nobilior* es amplia y dispersa, abarcando un área de aproximadamente 153612,63 Km², de las provincias de Ñuflor de Chávez, Velasco y Chiquitos (Santa Cruz) principalmente, aunque también se tienen reportes en algunas zonas de la provincia Ángel Sandoval y Germán Busch fronterizas con el Brasil. Rango altitudinal de esta especie es el siguiente, de 160-700 msnm.

Clima: El clima dominante, en el área de influencia de la *Cattleya nobilior*, es caracterizado por tener un período de inviernos secos y veranos húmedos. La temperatura media anual es de 25,3 °C, con una precipitación que ronda los 600 a 2300 mm, (Alarcón, 2005).

Factores de influencia (químicos y físicos): El crecimiento de la especie es influenciado por varios aspectos ambientales y fisiológicos como lo son: la calidad del aire, intensidad y duración de la luz solar, la temperatura, la calidad del agua de riego y frecuencia de irrigación, las fuentes de los nutrientes aplicados, la concentración y la frecuencia de aplicación de fertilizantes.

Las orquídeas y otros organismos: Según Rittershausen (2014), a lo largo de los años, y para sobrevivir a las inclemencias del clima las orquídeas han desarrollado asociaciones con otros organismos vivos. Dentro de la estructura de las raíces de la mayoría de las orquídeas coexiste un hongo microscópico (micelio). Esta alianza establece una relación simbiótica, según la cual tanto la orquídea como el hongo se hacen completamente dependientes uno del otro para su supervivencia.

Actividad propia de bioindicador: Se ha observado que debido a la alta contaminación atmosférica, es decir, deterioro de la calidad del aire que se ha ido manifestando en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, no solamente la población humana es afectada, asimismo la flora y fauna del lugar, por lo cual se pudo observar también que las orquídeas se han visto afectadas, uno de los efectos que se ha observado es la inhibición de su floración, quiere decir que debido a las altas concentraciones de la contaminación éstas no pueden florecer, lo que quiere decir que no habrá semillas y por consiguiente no se reproducirá. Se ha observado estas reacciones con mayor frecuencia en las orquídeas que se encuentran dentro del primer anillo de la ciudad.

Debido a las características propias, la sensibilidad que posee, la orquídea (*Cattleya nobilior*) es perceptiva a los cambios en el medio ambiente, estas diferencias en el ambiente las manifiesta en su morfología y fisiología.

Tamaño del pseudobulbo (variaciones de humedad).

Inhibición de su floración (exceso dióxido y monóxido de carbono).

Color de las hojas (presencia de ozono).

Crecimiento de las raíces (acumulación de partículas suspendidas).

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE PROPAGACIÓN *IN VITRO* PARA LA ORQUÍDEA (*CATTLEYA NOBILIOR*)

La micropropagación o propagación *in vitro* de las plantas fue originalmente desarrollada como una herramienta de investigación para estudiar la fisiología y la bioquímica de las plantas. Es la técnica más aplicada debido a su enorme productividad comparada con las técnicas tradicionales y se basa en la producción de tejidos estériles, la estimulación de la regeneración vegetal de tejido vegetal, el rápido crecimiento de las plántulas jóvenes, enraizamiento de las plántulas y su adaptación en condiciones normales del suelo.

DESARROLLO DEL MÉTODO

ESTERILIZACIÓN Y LIMPIEZA DEL MATERIAL A UTILIZAR.

Todo el material que se utilizó en laboratorio para realizar el trabajo de investigación se limpió y esterilizó en la estufa a presión (equipo esterilizador), con el propósito de eliminar cualquier virus, bacteria o patógenas presentes que podrían haber contaminado nuestras muestras.

MEDIO DE CULTIVO

Preparación del medio

Sales minerales (macronutrientes y micronutrientes).
Reguladoras de crecimiento (auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico).
Agentes quelatos (Ácido Etilendimin Tetra Acético, solución de Hierro).
Carbohidratos.
Vitaminas (Tiamina, Myo-inositol).
Carbón activado.

Material de soporte (Agar).

Preparación del material vegetal

Antes de introducir el material vegetal en el medio de cultivo, éste sufrió un proceso de esterilización.

EJECUCIÓN DEL MÉTODO

Etapas de la micropropagación

Etapa 1. Establecimiento de los cultivos.

Etapa 2. Multiplicación y enraizamiento.

Procedimientos fundamentales de cada etapa de micropropagación

Introducción del material vegetal.

Almacenamiento de los cultivos.

Observación y monitoreo de los explantes.

Evaluación de los Medios de Cultivo *in vitro* para la Propagación de la Orquídea (*Cattleya nobilior*)

Tomando en cuenta que la propagación *in vitro* cuenta con 2 etapas bien definidas, las cuales desarrollaremos a continuación:

Etapa 1. Establecimiento de los cultivos

La etapa se refiere al inicio de la propagación *in vitro* de la orquídea (*Cattleya nobilior*), comprende desde la introducción de la semilla genética hasta su desarrollo, para luego pasar a la multiplicación de cada plantín. Se realizaron los siguientes pasos:

Preparación de los medios de cultivo: Ésta se realizó de acuerdo a un procedimiento establecido por el Jardín Botánico Municipal, el cual es fundamental para la germinación de las semillas de la orquídea (*Cattleya nobilior*) este medio de cultivo se llama medio de establecimiento o de introducción.

Introducción de plantines en los medios de cultivo: Las semillas fueron introducidas de acuerdo al procedimiento establecido por el Jardín Botánico. Este procedimiento dará lugar a la germinación de las semillas de la orquídea.

Observación y Final de etapa de establecimiento: Se observó el desarrollo de cada uno de los frascos, y de esta manera se separó aquellos que estaban listos para ser trasplantados a los nuevos medios de cultivo que se probaron y evaluaron. El periodo de germinación duró aproximadamente 3 meses.

Etapa 2. Multiplicación y enraizamiento

La etapa de multiplicación, donde cada uno de los plantines que se colocan en los diferentes medios de cultivo deben desarrollarse y multiplicarse, a continuación, pasos a seguir:

Preparación de los medios de cultivo (multiplicación), ésta se realizó de acuerdo a los procedimientos descritos en el protocolo, donde se explica la preparación de cada uno de los tratamientos, asimismo cada tratamiento contó con 20 repeticiones (frascos). Se prepararon nueve tratamientos (medios de cultivo), es decir, un tratamiento testigo, y ocho tratamientos en donde existió una variación de la hormona BAP (6-bencilaminopurina).

Introducción de plantines en los medios de cultivo (multiplicación), las muestras vegetales fueron introducidas de acuerdo al procedimiento al protocolo descrito el cual es fundamental para tener éxito en el ensayo, cada repetición consta de 4 plantines de la orquídea (*Cattleya nobilior*), todas las repeticiones fueron etiquetadas y colocadas en la cámara de crecimiento para su posterior desarrollo.

Evaluación de los tratamientos (multiplicación), todos los tratamientos fueron evaluados cada 15 días durante 2 meses, los datos se recopilaron en tablas de evaluación, previamente establecidas.

Terminada la evaluación, pasa a la etapa de prolongación (enraizamiento) siguiendo el protocolo descrito en el Anexo B3, la cual dura 2 meses, finalmente concluida esta etapa se sacarán los plantines a un vivero para que se adapten a las condiciones ambientales naturales. Luego de llenar las tablas de evaluación se procedió a la tabulación de los mismos en Excel, para obtener un promedio de cada repetición y finalmente introducirlos al programa estadístico IBM SPSS versión 20, y de esta manera a través de éste poder someter los datos a las siguientes pruebas:

Exploración de datos estadísticos descriptivos Prueba de T de muestras relacionadas (T de student) Análisis de varianza según

ESTUDIO DE LA ORQUÍDEA (*CATTLEYA NOBILIOR*) COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA CIUDAD DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA

ANÁLISIS DE DATOS OBTENIDOS (COMPARACIÓN)

Se realizó una evaluación al ensayo cada 15 días, en donde se tomaron en cuenta tres variables, tamaño de planta, número de hojas y número de raíces.

EXPLORACIÓN DE DATOS ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS

Primero la información fue sometida a una exploración de datos estadísticos descriptivos donde se graficó la evolución que tuvo cada una de las variables de acuerdo a las mediciones realizadas, las cuales son las siguientes.

VARIABLE: TAMAÑO DE PLANTA

De acuerdo a esta variable de evaluación, se realizaron 5 mediciones con un intervalo de 15 días entre cada una de ellas.

Primera medición (Inicio): En el gráfico siguiente, se puede observar el tamaño de la planta promedio de acuerdo a cada tratamiento, este es el comienzo del ensayo para la etapa de multiplicación.

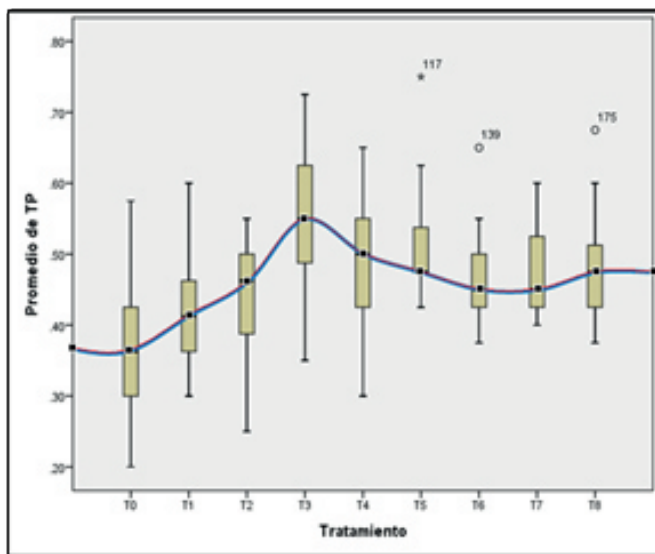


Gráfico 2. Tamaño De Planta-Tratamiento Medición 1

QUINTA MEDICIÓN (60 DÍAS): De acuerdo al gráfico 3 obtenido de las evaluaciones realizadas, se puede determinar que los tratamientos que tuvieron mayor crecimiento de los plantines fueron los tratamientos T4 y T5 ya que tuvieron un crecimiento aproximado de 0.4-0.5 mm de altura, estos no presentan datos aislados, en donde el T5 es el tratamiento que tuvo crecimiento homogéneo en todas sus repeticiones.

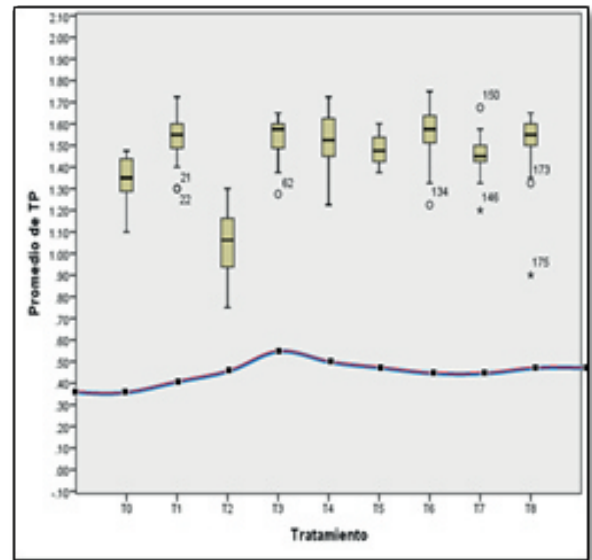


Gráfico 3. Tamaño De Planta-Tratamiento Medición 5

VARIABLE: NÚMERO DE HOJAS

Se realizó la evaluación de los plantines en cada uno de los tratamientos según el número de hojas que cada plantin tenía. Se evaluó desde su inicio hasta finalizar el ensayo, y dicha evaluación se la realizó cada 15 días.

Primera medición (Inicio): En el gráfico 4, se puede observar el número de hojas de acuerdo a cada tratamiento, este cuadro muestra el inicio del ensayo, en la etapa de multiplicación.

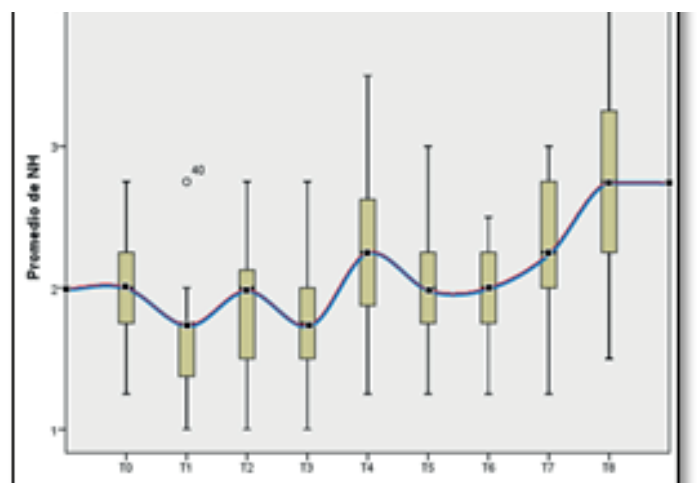


Gráfico 4. Número de Hojas-Tratamiento Medición 1

Quinta medición (60 días): El gráfico 5, esta es la última medición que se realizó y se observó según el gráfico, que el tratamiento que tuvo mejor resultado es el T4 y T5. Incrementando de 3-4 hojas en cada plantin del tratamiento.

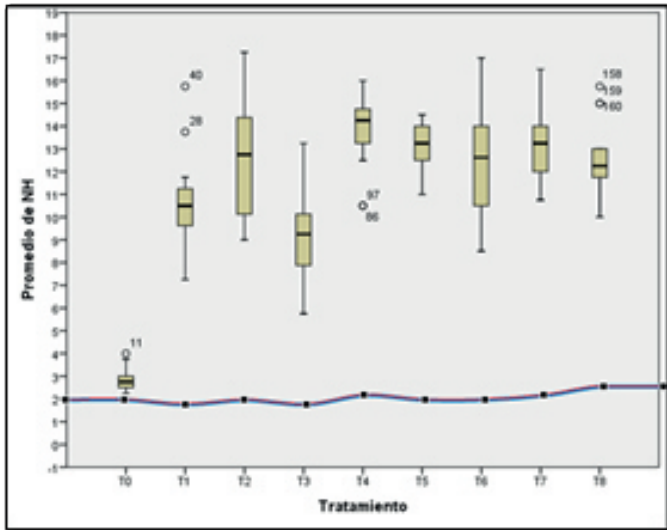


Gráfico 5. Número de Hojas-Tratamiento Medición 5

VARIABLE: NÚMERO DE RAÍCES

Asimismo, se realizó una evaluación al número de raíces en cada uno de los plantines en cada tratamiento. Se realizó la evaluación y recolección de datos cada 15 días.

Primera medición (Inicio): En el gráfico 6, se puede observar el número de raíces de acuerdo a cada tratamiento, este cuadro muestra el inicio del ensayo.

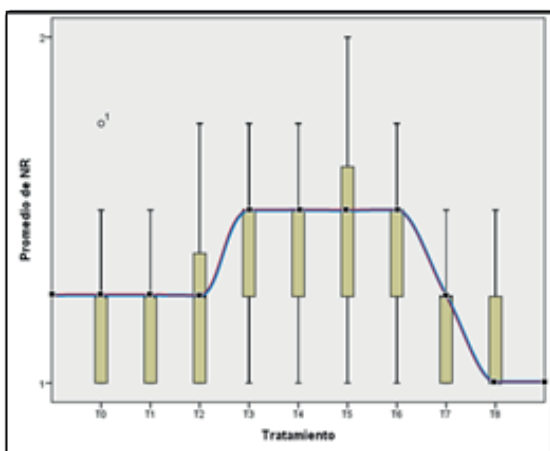


Gráfico 6. Número de Raíces -Tratamiento Medición 1

Asimismo, se realizó una evaluación al número de raíces en cada uno de los plantines en cada tratamiento. Se realizó la evaluación y recolección de datos cada 15 días.

Quinta medición (60 días): Gráfico 7, última medición que se realizó al ensayo, donde se observó que el T6 tiene mayor cantidad de raíces en sus plantines, además la mayoría de los plantines pertenecientes al T6 presentan entre 3-4 raíces. En cambio, en los demás tratamientos el incremento de las raíces fue disperso.

De manera complementaria se realizó la exploración de datos estadísticos descriptivos a cada uno de los tratamientos en relación a las 5 mediciones que se realizaron. En donde se observa de manera independiente la evolución de los plantines en sus respectivos tratamientos.

ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE UN FACTOR

Todos los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza en las variables: tamaño de planta, número de hojas y número de raíces.

VARIABLE: TAMAÑO DE PLANTA

En el cuadro 3 y 4, se puede observar los resultados del análisis de varianza ANOVA de un factor realizado a la variable tamaño de planta en relación a la última medición. Se aplicaron las pruebas de Tukey y Duncan para realizar las comparaciones.

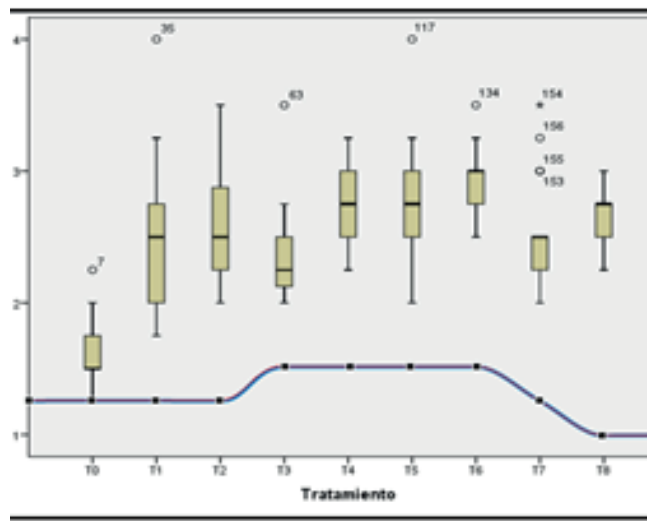


Gráfico 7. Número de Raíces -Tratamiento Medición 5

ESTUDIO DE LA ORQUÍDEA (*CATTLEYA NOBILIOR*) COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA CIUDAD DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA

T: Tratamiento. N: Número de repeticiones.

Descriptivos								
Promedio de TP								
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	
					Límite inferior	Límite superior		
	0	20	1.3413	10204	.02282	1.2935	1.3890	1.10
	1	20	1.5388	11106	.02483	1.4868	1.5907	1.30
	2	20	1.0438	14865	.03324	.9742	1.1133	.75
	3	19	1.5355	09976	.02289	1.4874	1.5836	1.28
	4	20	1.7125	88141	.19709	1.3000	2.1250	1.23
	5	20	1.4862	06857	.01533	1.4542	1.5183	1.38
	6	20	1.5575	13181	.02947	1.4958	1.6192	1.23
	7	17	1.4529	10416	.02526	1.3994	1.5065	1.20
	8	19	1.5026	17398	.03991	1.4188	1.5865	.90
Total	175		1.4630	35898	.02714	1.4094	1.5166	.75

Cuadro 3. Resumen de Datos

Cuadro 4. ANOVA-Tamaño de Planta

ANOVA de un factor					
Promedio de TP					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5.493	8	.687	6.732	.000
Intra-grupos	16.930	166	.102		
Total	22.422	174			

Cuadro 4. ANOVA-Tamaño de Planta

En el cuadro 5 se observa dos análisis, según Tukey y según Duncan, donde ambos coinciden en la selección de los mejores tratamientos.

Según Tukey: Los tratamientos se dividen en tres grupos, de acuerdo al crecimiento que se obtuvo en los plantines en cada tratamiento. Se detallan de la siguiente manera:

Grupo 1: T2 y T0, donde según Tukey, tratamientos que menos favorecieron a los plantines en su crecimiento.

Grupo 2: T7, T5, T8, T3, T1, T6 tratamientos que favorecieron el crecimiento. En caso del T0, que aparece en el grupo 1, significa que tiene mayor posibilidad de incrementar el crecimiento que el T2.

Grupo 3: También están los tratamientos del grupo 2, tienen la probabilidad de seguir beneficiando a los plantines (T7, T5, T8, T3, T1, T6). Pero cabe hacer notar que según Tukey el T4 es el mejor tratamiento para esta variable, éste benefició el crecimiento en mayor proporción que los demás.

Cuadro 5. Subconjuntos Homogéneos-Tamaño de Planta

Promedio de TP					
	T	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD de Tukey ^{a,b}	2	20	1.0438		
	0	20	1.3413	1.3413	
	7	17		1.4529	1.4529
	5	20		1.4862	1.4862
	8	19		1.5026	1.5026
	3	19		1.5355	1.5355
	1	20		1.5388	1.5388
	6	20		1.5575	1.5575
	4	20			1.7125
	Sig.			.096	.471
Duncan ^{a,b}	2	20	1.0438		
	0	20		1.3413	
	7	17		1.4529	
	5	20		1.4862	1.4862
	8	19		1.5026	1.5026
	3	19		1.5355	1.5355
	1	20		1.5388	1.5388
	6	20		1.5575	1.5575
	4	20			1.7125
	Sig.			1.000	.070

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 19.393.
b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Cuadro 5. Subconjuntos Homogéneos-Tamaño de Planta

Según Duncan: Los tratamientos se dividieron en 3 grupos, que van desde el menos efectivo al más efectivo.

Grupo 1: Sólo está el T2, no tuvo un efecto muy beneficioso para los plantines, no crecieron mucho.

Grupo 2: Se encuentran el T0, T7, T5, T8, T3, T1 y T6, estos tratamientos fueron más beneficiosos, los hicieron crecer un poco más.

Grupo 3: T5, T8, T3, T1 y T6, estos tienen la probabilidad de seguir siendo beneficiosos. Pero también en este grupo se encuentra el T4, que fue el mejor tratamiento para la variable analizada.

A continuación, podemos ver un gráfico de barras, donde se observa el crecimiento y desarrollo que tuvieron cada tratamiento.

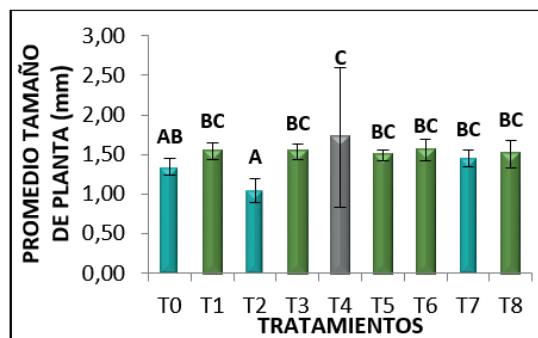


Gráfico 8. Promedio De Tamaño De Planta-Tratamientos

Finalmente, según el análisis realizado según Tukey y según Duncan el T4 (verde) fue el mejor tratamiento, pero también le siguen los T5, T8, T3, T1 y T6 (naranja), que de la misma manera influyeron efectivamente en los plantines.

Descriptivos							
Promedio de NH							
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
0	20	2.84	.446	.100	2.63	3.05	2
1	20	10.53	1.900	.425	9.64	11.41	7
2	20	12.54	2.428	.543	11.40	13.67	9
3	19	9.22	1.833	.421	8.34	10.11	6
4	20	13.88	1.450	.324	13.20	14.55	11
5	20	13.13	.995	.223	12.66	13.59	11
6	20	12.59	2.416	.540	11.46	13.72	9
7	17	13.21	1.514	.367	12.43	13.98	11
8	19	12.58	1.422	.326	11.89	13.26	10
Total	175	11.13	3.687	.279	10.58	11.68	2

Cuadro 6. Resumen de Datos

En el cuadro 6 y 7, se puede observar los resultados del análisis de varianza ANOVA de un factor realizado a la variable número de hojas en relación a la última medición. Se aplicaron las pruebas de Tukey y Duncan para realizar las comparaciones.

Cuadro 7. ANOVA-Número de Hojas

ANOVA de un factor					
Promedio de NH					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1877.231	8	234.654	79.884	.000
Intra-grupos	487.613	166	2.937		
Total	2364.844	174			

Cuadro 7. ANOVA-Número de Hojas

En el cuadro 8 se observa dos análisis, según Tukey y según Duncan.

Según Tukey: Se dividen en tres grupos, de acuerdo al incremento de las hojas obtenidas en las muestras en cada tratamiento. Se detallan de la siguiente manera:

Grupo 1: T0, que menos favoreció a los plantines en su incremento de hojas.

T: Tratamiento. N: Número de repeticiones.

Cuadro 8. Subconjuntos Homogéneos-Número de Hojas

Promedio de NH							
	T	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD de Tukey ^{a,b}	0	20	2.84				
	3	19		9.22			
	1	20		10.53			
	2	20			12.54		
	8	19			12.58		
	6	20			12.59		
	5	20			13.13		
	7	17			13.21		
	4	20			13.88		
	Sig.			1.000	.311	.275	
Duncan ^{a,b}	0	20	2.84				
	3	19		9.22			
	1	20			10.53		
	2	20				12.54	
	8	19				12.58	
	6	20				12.59	
	5	20				13.13	13.13
	7	17				13.21	13.21
	4	20					13.88
	Sig.			1.000	1.000	1.000	.288

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 19.393.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Cuadro 8. Subconjuntos Homogéneos-Número de Hojas

Grupo 2: T3 y el T1, tratamientos que favorecieron al crecimiento de forma regular.

Grupo 3: Mejores tratamientos, favorecieron más el incremento de las hojas de los plantines, son T2, T8, T6, T5, T7 y el T4.

Según Duncan: Se dividieron en 5 grupos, van del menos efectivo al más efectivo.

Grupo 1: Sólo está el T0, no tuvo un efecto muy beneficioso, no incrementaron mucho sus hojas.

Grupo 2: T3, fue un poco más beneficioso que T0.

Grupo 3: T1, tratamiento más favorable.

Grupo 4: Están el T2, T8, T6, T5 y el T7, estos fueron muy beneficiosos.

ESTUDIO DE LA ORQUÍDEA (*CATTLEYA NOBILIOR*) COMO BIOINDICADOR DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LA CIUDAD DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA

Grupo 5: Se encuentran el T5, T7 y el T4, fueron los mejores de todos los tratamientos, fueron más beneficiosos y efectivos que los demás.

A continuación, se ve un gráfico de barras, donde se observa el crecimiento y desarrollo que tuvieron cada tratamiento.

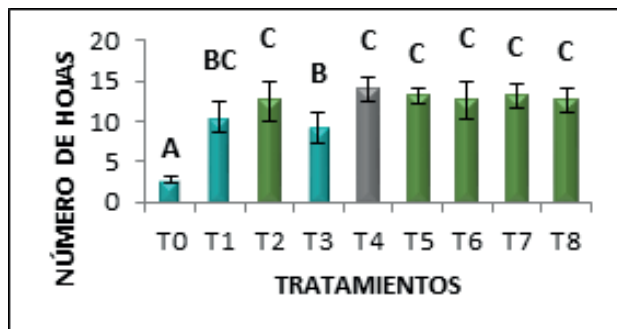


Gráfico 9. Promedio de Número de Hojas-Tratamientos

Finalmente, según el análisis realizado según Tukey y según Duncan el T4 (verde) fue el mejor tratamiento, pero también le siguen estos T7, T5, T6, T8, T2 (naranja) que de la misma manera influyeron efectivamente en los plantines.

VARIABLE: NÚMERO DE RAÍCES

Descriptivos							
Promedio de NR							
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
0	20	1.59	.247	.055	1.47	1.70	1
1	20	2.49	.559	.125	2.23	2.75	2
2	20	2.63	.385	.086	2.44	2.81	2
3	19	2.37	.367	.084	2.19	2.55	2
4	20	2.75	.324	.073	2.60	2.90	2
5	20	2.75	.444	.099	2.54	2.96	2
6	20	2.93	.270	.060	2.80	3.05	3
7	17	2.54	.407	.099	2.33	2.75	2
8	19	2.64	.225	.052	2.54	2.75	2
Total	175	2.52	.519	.039	2.44	2.60	1

Cuadro 9. Resumen de Datos

En el cuadro anterior, se puede observar los resultados del análisis de varianza ANOVA de un factor realizado a la variable analizada en relación a la última medición. Se aplicaron las pruebas de Tukey y Duncan para realizar las comparaciones.

Cuadro 10. ANOVA-Número de Raíz

ANOVA de un factor					
Promedio de NR					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	23.771	8	2.971	21.414	.000
Intra-grupos	23.034	166	.139		
Total	46.805	174			

Cuadro 10. ANOVA-Número de Raíz

En el cuadro 11 se observa dos análisis, según Tukey y según Duncan. Según Tukey: Los tratamientos se dividen en cuatro grupos, de acuerdo al incremento de raíces obtenidas en los plantines en cada tratamiento. Se detallan de la siguiente manera:

Grupo 1: En este grupo sólo se encuentra el T0, donde según Tukey es el tratamiento que menos favoreció a los plantines en su incremento de raíces.

Grupo 2: T3, T1, T7, T2 y T8, son aquellos tratamientos que favorecieron al crecimiento de las raíces de forma regular.

Grupo 3: Aquí aparecen los tratamientos que aumentaron un poco más el número de raíces en los plantines que los otros. Son el T1, T7, T2, T8, T4, y T5.

Grupo 4: Están los mejores tratamientos para la variable estudiada, el T2, T8, T4, T5 y el T6.

Según Duncan: Los tratamientos se dividieron en cuatro grupos, que van desde el menos efectivo al más efectivo.

Grupo 1: T0, no tuvo un efecto muy beneficioso para los plantines, ya que no incrementaron mucho sus raíces.

Grupo 2: Se encuentran el T3, T1, T7, T2, que fue un poco más beneficioso que el T0.

Grupo 3: T1, T7, T2, T8, T4, T5 tratamientos más favorable para los plantines.

Grupo 4: Están el T4, T5 y el T6, estos fueron los mejores tratamientos para los plantines.

Cuadro 11. Subconjuntos Homogéneos-Número de Raíces

Promedio de NR						
	T	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
HSD de Tukey ^{a,b}	0	20	1.59			
	3	19		2.37		
	1	20		2.49	2.49	
	7	17		2.54	2.54	
	2	20		2.63	2.63	2.63
	8	19		2.64	2.64	2.64
	4	20			2.75	2.75
	5	20			2.75	2.75
	6	20				2.93
	Sig.			1.000	.342	.414
Duncan ^{a,b}	0	20	1.59			
	3	19		2.37		
	1	20		2.49	2.49	
	7	17		2.54	2.54	
	2	20		2.63	2.63	
	8	19			2.64	
	4	20			2.75	2.75
	5	20			2.75	2.75
	6	20				2.93
	Sig.			1.000	.050	.055

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 19.393.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Cuadro 11. Subconjuntos Homogéneos-Número de Raíces

A continuación, se ve un gráfico de barras, donde se observa el crecimiento y desarrollo que tuvieron cada tratamiento

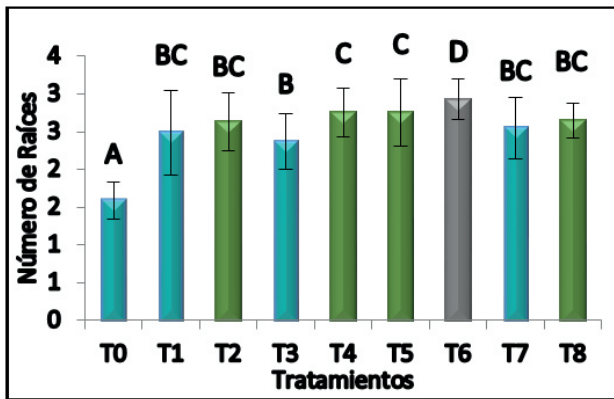


Gráfico 10. Promedio de Número de Raíces-Tratamientos

Finalmente, según el análisis realizado según Tukey y según Duncan el T6 fue el mejor tratamiento, pero también le siguen el T5, T4, T8, T2, que de la misma manera influyeron efectivamente en los plantines.

De acuerdo al diagnóstico realizado a la orquídea (*Cattleya nobilior*), se pudo describir su característica botánica, tanto morfológicas, fisiológicas como ecológicas:

Morfológicas, Son epífitas, donde cada una de las partes de la orquídea tienen sus características propias, el pseudobulbo, compuesto de un material fibroso que le permite retener agua y hacer frente al estrés hídrico, el rizoma que es la base para el crecimiento de la orquídea, las raíces blancas encargadas de la absorción de nutrientes y a su vez le permiten anclarse, hojas verdes y carnosas, flor de un color que oscila entre rosado y morado, la vaina que es el fruto la cual en su interior tiene miles de semillas.

Fisiológicas, cada una de las funciones de la orquídea (*Cattleya nobilior*) son fundamentales para su desarrollo. Esta orquídea es denominada una planta CAM (Metabolismo ácido Crasuláceo) debido al tipo de fotosíntesis que realiza. Esta planta realiza la apertura de sus estomas durante la noche donde absorbe agua y dióxido de carbono para posteriormente en el amanecer recién realizar la fotosíntesis como el resto de las plantas.

Ecológicas, la orquídea (*Cattleya nobilior*) se desenvuelve en lugares donde existe bastante humedad, se la puede ubicar biogeográficamente en nuestro país en la región brasileño-paranaense en la provincia biogeográfica del cerrado y en la región Chaqueña en la provincia del chaco boreal. En el departamento de Santa Cruz la encontramos en las siguientes provincias: Chiquitos, Ñuflo de Chávez y Velasco, especialmente en el Parque Nacional Noel Kempff Mercado.

Debido a las características propias, la sensibilidad que posee, la orquídea (*Cattleya nobilior*) es perceptiva a los cambios en el medio ambiente, estas diferencias en el ambiente las manifiesta en su morfología y fisiología.

Tamaño del pseudobulbo (variaciones de humedad).

Inhibición de su floración (exceso dióxido y monóxido de carbono).
Color de las hojas (presencia de ozono).

Crecimiento de las raíces (acumulación de partículas suspendidas).
El método *in vitro* de la orquídea (*Cattleya nobilior*) es considerado como la mejor opción por su factibilidad para la propagación, debido a la difícil reproducción natural de esta especie y al tiempo que esta conlleva. Para la realización de este método se tomaron en cuenta varios factores:

Normas básicas de seguridad.

Equipo de protección personal.

Mantenimiento del laboratorio.

De acuerdo a los factores anteriores se estableció el protocolo de propagación:

Esterilización y limpieza del material.

Componentes y preparación del medio de cultivo.

Preparación del material vegetal.

Ejecución del método, que comprende dos etapas (establecimiento, multiplicación y enraizamiento).

Se evaluaron distintos tratamientos (medios de cultivo *in vitro*) durante la etapa de multiplicación, donde se probaron 8 tratamientos (composición variada), los cuales fueron evaluados cada 15 días, donde se observó:

Tamaño de planta.

Número de hojas.

Número de raíces.

Basado en las pruebas comparativas de Tukey y Duncan los mejores tratamientos observados responden a los T4 y T5 durante el ensayo.

De acuerdo al análisis realizado, se puede concluir que el mejor tratamiento para la etapa de multiplicación y enraizamiento es el T4, ya que éste mostró los mejores promedios de crecimiento en las variables tamaño de planta, número de hojas y número de raíces. Este tratamiento contiene mayor cantidad de hormona que los demás, posee 2.5 mg/l de BAP (Bencil Animo Purina) y 70 gr/l de plátano (*Musa paradisiaca*) con cáscara, aparte de los componentes básicos.

De la misma manera el tratamiento T5, es el mejor después del T4, ya que presentó excelentes promedios en las tres variables evaluadas, tamaño de planta, número de hojas, número de raíces. Éste posee 1 mg/l de BAP (Bencil Animo purina) y 100 ml de agua de coco (*Cocos nucifera*), además de los componentes básicos, es el tratamiento que contiene menor cantidad de hormona.

REFERENCIAS

- Aguirre, G., Ugarte, C., Sifuentes, E. D., Rojas, K., Coca, N., Barra, S. d., y otros. (2010). APLICACION DEL CULTIVO DE TEJIDOS EN LA MULTIPLICACION Y CONSERVACION DE LOS RECURSOS FITOGENETICOS. COCHABAMBA, BOLIVIA: M&R BARCELONA.
- Alarcón, M. (2005). *Cattleya nobilior*. MICROPLANTA.
- Albert, L. A. (2010). CONTAMINACION AMBIENTAL, ORIGEN, CLASES, FUENTES Y EFECTOS .
- Alvarez, D. (2013). APLICACIONES DE LA BIOQUIMICA .
- BIOENCICLOPEDIA. (11 de 04 de 2014). BIOENCICLOPEDIA . Recuperado el 11 de 04 de 2017, de CONTAMINACION HIDRICA : <http://www.bioenciclopedia.com/contaminacion-hidrica/>
- Blanch, A. R. (2011). Biotecnología ambiental. Aplicaciones biotecnológicas. Barcelona, España: Universidad de Barcelona.
- Boltovskoy, E. (1978). PROBLEMAS DE LOS INDICADORES BIOLOGICOS EN LA OCEANOGRAFIA. BUENOS AIRES: Acad. Cienc. Ex. Fís. Nat.
- BOTANICA. (2016). FOTOSINTESIS. Recuperado el 10 de 04 de 2017, de FOTOSINTESIS : <http://www.botanical-online.com/fotosintesis.htm>
- Capó Martí, M. A. (2002). Principios de ecotoxicología diagnóstico, tratamiento y gestion de. España: McGraw-Hill Interamericana de España.
- Castillo, A. (2008). Propagación de plantas por cultivo in vitro.: INIA.
- CENTRO DE BIOTECNOLOGIA/ UNIVERSIDAD DE CONCEPCION . (2008). BIOTECNOLOGIA . Mexico.
- Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal "Enrique Álvarez Córdova". (2004). Tecnología de Semillas. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal "Enrique Álvarez Córdova".
- Claire, M. (2016). CONTAMINACION ATMOSFERICA .
- D'Alessandro, M. (2016). LAS ORQUIDEAS . CHILE : FLORES.
- Damon, D. A. (2013). Las orquideas enigmáticas/ PROYECTO MEXICO. MEXICO: SONORA.
- Diaz-Toribio, M. H. (2009). ORQUIDEAS TERRESTRES COMO INDICADORAS DE LA CALIDAD AMBIENTAL EN FRAGMENTOS DE BOSQUE MESOFILO DE MONTANHA. XALAPA, VERACRUZ MEXICO: INSTITUTO DE ECOLOGIA.
- ECOLOGIA VERDE . (22 de 10 de 2014). ECOLOGIA VERDE/ DESARROLLO SOSTENIBLE PARA UN MUNDO MEJOR. Recuperado el 11 de 04 de 2017, de CONTAMINACION DEL SUELO, CAUSAS, CONSECUENCIAS Y SOLUCIONES : <http://www.ecologiaverde.com/contaminacion-del-suelo-causas-consecuencias-y-soluciones/>
- Encinas Malagón, M. D. (2011). MEDIO AMBIENTE Y CONTAMINACION, PRINCIPIOS BASICOS.
- GAM SCZ. (2014). AUDITORIA DE DESEMPEÑO SOBRE LA CONTAMINACION ATMOSFERICA EN EL AREA METROPOLITANA DE SCZ. SANTA CRUZ DE LA SIERRA.
- Garrido, A. (2010). ENFOQUES ALTERNATIVOS DE ECONOMIA AMBIENTAL Y SU SIGNIFICADO EN POS DE UNA AGRICULTICA. MADRID: DEPARTAMENTO DE ECONOMIA Y CIENCIAS SOCIALES AGRARIAS/UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID.
- Gastelum, M. T. (2014). FISILOGIA FORESTAL/METABOLISMO. Mexico.
- Gomez, D. M. (2014). CATTLEYA NOBILIOR sp. ORQUIDEAS, 15.
- Gonzales, H. L. (22 de 03 de 2014). SLIDESHARE. Recuperado el 11 de 04 de 2017, de LA BIOTECNOLOGIA Y SUS APLICACIONES AMBIENTALES: <https://es.slideshare.net/HerryLlocilaGonzales/biotecnologia-y-sus-aplicaciones-ambientales>
- Haeckel, E. (1969). ORIGEN DE LA ECOLOGIA . ECOLOGIA Y BIOLOGIA .
- Hierro, J. d. (15 de 04 de 2009). ORQUIDEAS TERMOMETROS DEL ECOSISTEMA. ECUADOR.
- Huari, B. W. (2013). Manual de orquideas, identificación y origen. Lima, Peru : Alan Kamel Huidobro Braco.
- INTA (Instituto nacional de innovación y transferencia en tecnología agropecuaria/AECI Agencia española de cooperación Internacional. (2005). Producción en ambientes protegidos y/o controlados. Costa Rica: INTA.
- Jimenez Perez, I. (2011). REGISTROS NUEVOS DE LOS BOSQUE MONTANOS DE BOLIVIA. PARTE I. SCIELO.
- Jofré, D. M. (2002). INDICADORES BIOLÓGICOS DE CALIDAD AMBIENTAL. UNSL.
- López Tévez, L., & Torres, C. (2006). MEDIOS DE CULTIVO.
- Lopez, R.J. Castillo. (s.f.). ORQUIDEAS: LA BELLEZA IN VITRO. EL PORTAL DE LAS ORQUIDEAS, 10.
- Marcano, J. (2015). LA CONTAMINACION ATMOSFERICA .
- MICROINMUNO. (2010). MEDIOS DE CULTIVO . Mexico.
- Montoya Castillo, W. (2010). BOTANICA SISTEMATICA. Huaraz.
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K., Kennelly, P., & Weil, A. (2009). BIOQUIMICA APLICADA . China : Mc Graw Hill.
- Navarro, G., & Maldonado, M. (2005). GEOGRAFIA ECOLOGICA DE BOLIVIA/VEGETACION Y AMBIENTES ACUATICOS. Santa Cruz, Bolivia: Centro OMS. (24 de MAYO de 2016). AUMENTO DE LA CONTAMINACION ATMOSFERICA EN UN 8% EN 5 AÑOS. CADENA SER.
- P.Odum, E., & Warret, G. W. (2005). FUNDAMENTOS DE ECOLOGIA. THOMSON.
- Pautrat, L., Ángulo, I., Germana, C., Uchima, C., Castillo, R., Candela, M., y otros. (2002). MANUAL DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE COMERCIO ILEGAL. Lima, Peru: Instituto Nacional de Recursos Naturales - INRENA.
- Peñarreta, L. (2009). BOTANICA SISTEMATICA.
- Portela, R. (2011). CIENCIA Y BIOLOGIA . Recuperado el 03 de Abril de 2017, de Ramas de la biología: ¿Qué es la botánica?: <https://cienciaybiologia.com/ramas-de-la-biologia-botanica/>
- Ramírez, M. (07 de 06 de 2014). RENOVABLES VERDES . Recuperado el 11 de 04 de 2017, de CAUSAS Y CONSECUENCIAS DE LA CONTAMINACION DEL SUELO: <https://www.renovablesverdes.com/contaminacion-del-suelo/>
- Rittershausen, B. & (2014). Orquideas/ Enciclopedia practica. Madrid, España : LIBSA.
- Rivera, G. M. (2011). ECOLOGIA Y MEDIO AMBIENTE . Sonora, Mexico .
- Rocha, P. (2004). Publicaciones.fedepalma.org. Obtenido de publicaciones.fedepalma.org: <http://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1061/1061>
- Romero, T. A. (22 de 11 de 2012). SLIDESHARE. Recuperado el 11 de 04 de 2017, de BIOQUIMICA AMBIENTAL: <https://es.slideshare.net/ta456/bioquimica-ambiental-2012-1>
- SERVICIO NACIONAL DE METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. (s.f.). Recuperado el 10 de 03 de 2017, de <http://www.senamhi.gob.bo/>
- Tapia, C. C. (2008). El enfoque de la Economía Ambiental en perspectiva crítica. MICHOACAN, MEXICO: UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO.
- Tiza Arias, G. (2010). "PROPAGACION in vitro DE LAS ORQUIDEAS *Dendrobium*, *Laelia anceps*, *Phalaenopsis* y *Sobralia xantholeuca*". Veracruz.
- UAEH. (2014). Agronegocios. Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo.
- Vásquez Ch., R., & Ibsch, P. L. (2004). Orquideas de Bolivia. SANTA CRUZ DE LA SIERRA, BOLIVIA: F.A.N. (Fundacion Amigos de la Naturaleza).