



Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología con Mención en Biotecnología

**Bioestimulante de *Chlorella vulgaris* para el mejoramiento en la micropropagación
in vitro de fresa (*Fragaria* × *ananassa*)**

Tesis

Para optar el Título Profesional de Biólogo con Mención en Biotecnología

Autores

Jorge Bruno Yzaguirre Changanqui

Jenifer Pamela Roque Garcia

Asesora

Dra. Hermila Belba Diaz Pillasca


Mg. HERMILA DIAZ PILLASCA
BIÓLOGA

Huacho – Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial – Sin Derivadas - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Reconocimiento: Debe otorgar el crédito correspondiente, proporcionar un enlace a la licencia e indicar si se realizaron cambios. Puede hacerlo de cualquier manera razonable, pero no de ninguna manera que sugiera que el licenciante lo respalda a usted o su uso. **No Comercial:** No puede utilizar el material con fines comerciales. **Sin Derivadas:** Si remezcla, transforma o construye sobre el material, no puede distribuir el material modificado. **Sin restricciones adicionales:** No puede aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros de hacer cualquier cosa que permita la licencia.



UNIVERSIDAD NACIONAL
JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN
LICENCIADA

(Resolución de Consejo Directivo N° 012-2020-SUNEDU/CD de fecha 27/01/2020)

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología con Mención en Biotecnología

METADATOS

DATOS DEL AUTOR:		
NOMBRES Y APELLIDOS	DNI	FECHA DE SUSTENTACIÓN
Jorge Bruno Yzaguirre Changanaqui	70356311	28 de setiembre del 2026
Jenifer Pamela Roque Garcia	72438372	28 de setiembre del 2026
DATOS DEL ASESOR:		
NOMBRES Y APELLIDOS	DNI	CÓDIGO ORCID
Dra. Hermila Belba Diaz Pillasca	15601607	https://orcid.org/0000-0002-2491-3774
DATOS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO		
NOMBRES Y APELLIDOS	DNI	CÓDIGO ORCID
Dr. José Luis Romero Bozzetta	15581525	https://orcid.org/0009-0005-2859-3439
Mo. Santiago Pedro Ravines Miranda	17837748	https://orcid.org/0000-0002-2879-2121
Mo. Hector Alexis Herrera Vega	40337667	https://orcid.org/0000-0002-7739-3012

YZAGUIRRE CHANGANAQUI Y ROQUE GARCÍA

Bioestimulante de *Chlorella vulgaris* para el mejoramiento en la micropropagación in vitro de fresa (*Fragaria* × *ananassa*)



ASESORIAS 2026



TESIS PREGRADO



Facultad de Ciencias

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::1:3642791768

Fecha de entrega

7 sep 2026, 12:46 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

7 sep 2026, 12:52 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS_ROQUE-BRUNO_2026.docx

Tamaño del archivo

3.0 MB

52 páginas

9842 palabras

56.211 caracteres



Página 2 de 58 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid:::1:3642791768

14% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- » Bibliografía
- » Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 13%  Fuentes de Internet
- 4%  Publicaciones
- 7%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A nuestros padres por ser el pilar fundamental de nuestras vidas, por sus consejos y los ánimos que nos dan para continuar con nuestro crecimiento profesional. Por todos los sacrificios que hicieron para mantenernos firmes a lo largo de este camino.

A todas aquellas personas que nos apoyaron como productores agrarios localidad de Huaral, Equipo de la instrucción INIA donoso que estuvieron acompañando y orientado en cada momento de la instigación.

A nuestras familias y amigos por sus palabras de aliento, que nos brindaron soporte y la confianza necesaria para asumir cada reto se nos presentaba.

A nuestros docentes por guiarnos y enseñarnos a no rendirnos, también por los momentos compartidos y anécdotas que se quedan en nuestra memoria.

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro agradecimiento a nuestra asesora la Dra. Hermila Belba Diaz Pillasca y miembros del jurado, por sus valiosos aportes, observaciones y correcciones a lo largo de nuestra investigación.

Asimismo, agradecemos de manera especial al Ingeniero Pedro Eduardo Nicho Salas jefe de la unidad PNI de la institución INIA Donoso, por su apoyo, su disposición permanente y la colaboración brindada durante todo el proceso. Su contribución fue clave para hacer posible esta investigación. Además, a la jefa de laboratorio, Filomena Marcelo Cabello, por guiarnos durante el proceso de investigación.

Finalmente, agradecemos a nuestras familias, quienes con su compañía, motivación y apoyo incondicional hicieron también posible la culminación de este logro académico.

Resumen

Objetivo: Determinar si la aplicación de un bioestimulante a partir de *Chlorella vulgaris* influye en la micropropagación *in vitro* de fresa (*Fragaria × ananassa*) variedad San Andreas, como alternativa sostenible a las fitohormonas sintéticas. **Metodología:** Se empleó un diseño completamente aleatorizado con cinco tratamientos por fase. En multiplicación: T1 (BAP 2 mg/L), T2 (0 g/L), T3 (1 g/L), T4 (4 g/L), T5 (8 g/L). En enraizamiento: T1 (IBA 1 mg/L + MS 50%), T2 (0 g/L), T3 (0.5 g/L), T4 (1 g/L), T5 (2 g/L). Se evaluaron número de brotes/hojas/raíces, longitudes y crecimiento relativo a los 28 y 42 días. **Resultados:** En multiplicación, T4 produjo el mayor número de hojas (23.80), superando al control BAP (3.87). En enraizamiento, T5 indujo el mayor número de raíces (8.73), superando al IBA (6.13). El análisis multivariado (PCA) explicó el 69.8% y 83.1% de la varianza en cada fase. **Conclusión:** *Chlorella vulgaris* modula positivamente la morfogénesis, especialmente en desarrollo foliar y densidad radical, reduciendo costos en un 62-65% respecto a las fitohormonas sintéticas.

Palabras clave: *Chlorella vulgaris*, bioestimulante, micropropagación, fresa, cultivo *in vitro*

Abstract

Objective: To determine whether the application of a *Chlorella vulgaris*-based biostimulant influences the *in vitro* micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa*) San Andreas variety, as a sustainable alternative to synthetic phytohormones. **Methodology:** A completely randomized design was used with five treatments per phase. In multiplication: T1 (2 mg/L BAP), T2 (0 g/L), T3 (1 g/L), T4 (4 g/L), T5 (8 g/L). In rooting: T1 (1 mg/L IBA + 50% MS), T2 (0 g/L), T3 (0.5 g/L), T4 (1 g/L), T5 (2 g/L). Morphometric variables (number of shoots/leaves/roots, lengths, relative growth) were evaluated at 28 and 42 days. **Results:** In multiplication, T4 produced the highest number of leaves (23.80), surpassing the BAP control (3.87). In rooting, T5 induced the highest number of roots (8.73), exceeding IBA (6.13). Multivariate analysis (PCA) explained 69.8% and 83.1% of the variance in each phase. **Conclusion:** *Chlorella vulgaris* positively modulates morphogenesis, especially in leaf development and root density, reducing costs by 62-65% compared to synthetic phytohormones.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, biostimulant, micropropagation, strawberry, *in vitro* culture

INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria* × *ananassa*) se ha consolidado como uno de los frutales de mayor relevancia económica a nivel mundial, con una demanda creciente que ha impulsado su producción en diversas regiones. En el Perú, este cultivo se extiende aproximadamente entre 2800 y 3200 hectáreas, concentrándose principalmente en las regiones de La Libertad y Lima, y ha mostrado un desempeño exportador notable, alcanzando los 42 millones de dólares en fresa congelada durante el año 2023. Sin embargo, a pesar de este panorama prometedor, la producción nacional enfrenta serias limitaciones vinculadas a los sistemas tradicionales de propagación. La multiplicación por estolones, ampliamente utilizada por los agricultores, conlleva riesgos fitosanitarios considerables, ya que facilita la diseminación de virus, microplasma, nematodos y hongos fitopatógenos, ocasionando pérdidas sustanciales en el rendimiento y la calidad del material vegetal.

Ante esta problemática, la micropropagación *in vitro* ha emergido como una técnica viable y eficiente para obtener material vegetal de alta calidad fitosanitaria en condiciones asépticas y controladas. No obstante, esta metodología presenta un inconveniente significativo: depende en gran medida del uso de reguladores de crecimiento sintéticos, cuyos costos son elevados en el mercado peruano debido a su importación. Compuestos como el BAP y el IBA representan un gasto considerable para los laboratorios de propagación, sin considerar adicionalmente el costo de los medios de cultivo como el MS. Esta situación hace imperativo buscar alternativas más accesibles y sostenibles que permitan reducir costos sin comprometer la eficiencia del proceso.

En este contexto, las microalgas han despertado un creciente interés como fuentes naturales de bioestimulantes. Investigaciones previas han identificado la presencia de auxinas, citoquininas, giberelinas y brasinoesteroides en diversas cepas de microalgas, lo que las convierte en candidatas prometedoras para complementar o incluso sustituir parcialmente a las fitohormonas sintéticas. Entre ellas, *Chlorella vulgaris* destaca especialmente por su elevado contenido de proteínas, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos, así como por su facilidad de cultivo y alta productividad. Estudios realizados tanto a nivel internacional como nacional han demostrado que los extractos de esta microalga pueden mejorar significativamente el crecimiento y desarrollo de diversas especies vegetales.

Por lo tanto, la presente investigación se propuso evaluar el efecto de un bioestimulante derivado de *Chlorella vulgaris* sobre la micropropagación *in vitro* de fresa variedad San Andreas, como una alternativa sostenible y económicamente viable. El estudio se desarrolló en la Estación Experimental Agraria Donoso - Huaral del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), entre noviembre de 2025 y abril de 2026. Se empleó un diseño completamente aleatorizado con cinco tratamientos por fase, evaluando variables morfométricas como número de brotes, hojas, raíces, longitudes y crecimiento relativo. Los resultados obtenidos permitirán determinar si esta microalga puede constituir una opción viable para reducir costos y mejorar la calidad de los plantines producidos, beneficiando especialmente a los pequeños y medianos productores del país.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTO	VI
Resumen	VII
Abstract.....	VIII
INTRODUCCIÓN	IX
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.1 Descripción de la realidad problemática	14
1.2 Formulación del problema	15
1.2.1 Problema general.....	15
1.2.2 Problemas específicos	15
1.3 Objetivos de la investigación	15
1.3.1 Objetivo general	15
1.3.2 Objetivos específicos	15
1.4 Justificación de la investigación	16
1.5 Delimitación del estudio	16
1.6 Viabilidad del estudio.....	16
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	17
2.1 Antecedentes de la investigación	17
2.1.1 Antecedentes internacionales	17
2.1.2 Antecedentes nacionales.....	19
2.2 Bases teóricas.....	20
2.2.1 <i>Fragaria × ananassa</i>	20
2.2.2 La fresa en el Perú	21
2.2.3 Micropropagación.....	21
2.2.4 Morfogénesis	21
2.2.5 <i>Chlorella vulgaris</i>	21
2.2.6 Cultivo de microalgas.....	22
2.2.7 Parámetros de cultivo de <i>Chlorella</i>	22
2.3 Bases filosóficas	22

2.4	Definición de términos básicos	22
2.5	Hipótesis de la investigación	23
2.5.1	Hipótesis general	23
2.5.2	Hipótesis específicas	23
2.6	Operacionalización de las variables	24
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA		25
3.1	Diseño metodológico	25
3.2	Población y muestra	26
3.3	Tratamientos evaluados	26
3.3.1	Fase de multiplicación	26
3.3.2	Fase de enraizamiento	26
3.4	Procedimiento experimental	27
3.4.1	Cultivo de <i>Chlorella vulgaris</i>	27
3.4.2	Obtención de biomasa liofilizada	27
3.4.3	Siembra de explantes y aplicación de tratamientos	27
3.5	Variables de respuesta	27
3.6	Análisis estadístico	28
CAPÍTULO IV: RESULTADOS		29
4.1	Resultados de la fase de multiplicación	29
4.1.1	Número de brotes	29
4.1.2	Número de hojas	30
4.1.3	Longitud de brotes y número de raíces en multiplicación	31
4.1.4	Análisis de componentes principales (PCA) - Multiplicación	31
4.2	Resultados de la fase de enraizamiento	32
4.2.1	Altura final y crecimiento relativo	32
4.2.2	Número y longitud de raíces en enraizamiento	33
4.2.3	Análisis de componentes principales (PCA) - Enraizamiento	34
4.3	Síntesis integrada de resultados	35
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN		36
5.1	Bioestimulante de <i>Chlorella vulgaris</i> modulador de la morfogénesis	36
5.2	La paradoja del enraizamiento: cantidad vs. calidad	36
5.3	Implicaciones biotecnológicas y sostenibilidad	37

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
6.1 Conclusiones	39
6.2 Recomendaciones	39
CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de variables.....	24
Tabla 2 Tratamientos en fase de multiplicación	26
Tabla 3 Tratamientos en fase de enraizamiento	26
Tabla 4 Estadística descriptiva del número de brotes por tratamiento.....	29
Tabla 5 Estadística descriptiva del número de hojas por tratamiento	30
Tabla 6 Resumen de resultados para longitud de brotes y número de raíces	31
Tabla 7 Estadística descriptiva de la altura final (mm) y crecimiento relativo	32
Tabla 8 Estadística descriptiva del número y longitud de raíces	33
Tabla 9 Resumen integrado de resultados según objetivos específicos.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Diagrama de flujo del diseño experimental</i>	25
Figura 2. <i>Diagrama de cajas del número de brotes por tratamiento en la fase de multiplicación</i>	29
Figura 3. <i>Diagrama de cajas del número de hojas por tratamiento</i>	30
Figura 4. <i>Biplot PCA de la fase de multiplicación</i>	31
Figura 5. <i>Diagrama de cajas del número de raíces por tratamiento en enraizamiento</i> .	33
Figura 6. <i>Bip Lot PCA de la fase de enraizamiento</i>	34
Figura 7 <i>Cultivo de microalgas</i>	47
Figura 8 <i>Biomasa liofilizada</i>	47
Figura 9 <i>Fase de multiplicación (día 28)</i>	48
Figura 10 <i>Fase de enraizamiento (día 42)</i>	48
Figura 11 <i>Tubos con medios de cultivo para reproducción vegetativa.</i>	49

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

La fresa (*Fragaria* × *ananassa*) constituye uno de los frutales de mayor demanda a nivel mundial, con un crecimiento sostenido en su producción durante la última década (Arias et al., 2020). En el Perú, este cultivo se extiende aproximadamente entre 2800 y 3200 hectáreas, concentrándose el 80% de la producción en las regiones de La Libertad y Lima (MIDAGRI, 2024; Red Agrícola, 2021). Las exportaciones peruanas de fresa congelada alcanzaron los 42 millones de dólares en 2023, evidenciando un crecimiento del 15% respecto al año anterior (AGAP, 2024).

A pesar de esta importancia económica, la producción nacional enfrenta limitaciones significativas relacionadas con los métodos tradicionales de propagación. La propagación por estolones conlleva riesgos fitosanitarios considerables, incluyendo la diseminación de virus, microplasma, nematodos y hongos fitopatógenos, lo que ocasiona pérdidas sustanciales en el rendimiento (Mamani & Murillo, 2020; Puscan, 2023). Ante esta problemática, la micropropagación *in vitro* emerge como una técnica viable para obtener material vegetal de alta calidad fitosanitaria en condiciones asépticas y controladas.

No obstante, la micropropagación convencional depende en gran medida del uso de reguladores de crecimiento sintéticos, cuyos costos son elevados en el mercado peruano debido a su importación. Por ejemplo, un gramo de 6-bencilaminopurina (BAP) puede alcanzar los 115 dólares, mientras que el ácido indolbutírico (IBA) supera los 15 dólares por gramo (Sigma-Aldrich, 2016). Adicionalmente, los medios de cultivo como el MS (Murashige & Skoog, 1962) representan un costo promedio de 55 a 70 dólares por cada 10 litros preparados.

En este contexto, las microalgas han despertado un creciente interés como fuentes naturales de bioestimulantes. Estudios previos han identificado la presencia de auxinas, citoquininas, giberelinas y brasinoesteroides en diversas cepas de microalgas (Stirk et al., 2013), lo que las convierte en candidatos prometedores para complementar o incluso sustituir parcialmente a las fitohormonas sintéticas. Entre ellas, *Chlorella vulgaris* destaca por su elevado contenido de proteínas, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos, así como por su facilidad de cultivo y alta productividad (Safi et al., 2014).

Por lo tanto, la presente investigación se propuso evaluar el efecto de un bioestimulante derivado de *Chlorella vulgaris* sobre la micropropagación *in vitro* de fresa, como una alternativa sostenible y económicamente viable para reducir costos y mejorar la calidad de los plantines producidos.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿La aplicación de un bioestimulante a partir de *Chlorella vulgaris* favorecerá la micropropagación *in vitro* de *Fragaria × ananassa* (fresa)?

1.2.2 Problemas específicos

- **PE1:** ¿La cantidad de biomasa de *Chlorella vulgaris* influye en la micropropagación *in vitro* de fresa?
- **PE2:** ¿La aplicación de tratamientos con *Chlorella vulgaris* afecta diferencialmente las fases de multiplicación y enraizamiento?
- **PE3:** ¿La respuesta del cultivo *in vitro* de fresa se modifica ante la inoculación de *Chlorella vulgaris*?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar si la aplicación de un bioestimulante a partir de *Chlorella vulgaris* influye en la micropropagación *in vitro* de *Fragaria × ananassa* (fresa).

1.3.2 Objetivos específicos

- **OE1:** Determinar la cantidad de biomasa de *Chlorella vulgaris* que influye favorablemente en la micropropagación *in vitro* de fresa.
- **OE2:** Establecer si existen diferencias significativas en las fases de multiplicación y enraizamiento ante la aplicación de los tratamientos.
- **OE3:** Evaluar la respuesta del cultivo *in vitro* de fresa ante la inoculación de *Chlorella vulgaris*.

1.4 Justificación de la investigación

La presente investigación se justifica desde múltiples perspectivas. **Socialmente**, busca ofrecer una alternativa de bajo costo para pequeños y medianos productores de fresa en el Perú, facilitando el acceso a material vegetal de calidad. **Ambientalmente**, promueve el uso de bioestimulantes naturales que reducen la dependencia de compuestos químicos sintéticos. **Económicamente**, pretende disminuir los costos de producción asociados a la importación de fitohormonas. **Científicamente**, genera conocimiento sobre el potencial biotecnológico de *Chlorella vulgaris* como bioestimulante en cultivos *in vitro*, abriendo nuevas líneas de investigación en el país.

1.5 Delimitación del estudio

Delimitación espacial: El estudio se realizó en la Estación Experimental Agraria Donoso - Huaral del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales.

Delimitación temporal: La investigación se desarrolló entre noviembre de 2025 y abril de 2026, con una duración total de seis meses.

1.6 Viabilidad del estudio

El estudio fue viable debido a la disponibilidad de infraestructura y equipos especializados en el laboratorio del INIA, la accesibilidad a la cepa de *Chlorella vulgaris* y al material vegetal de fresa variedad San Andreas, así como el financiamiento autogestionado por los tesisistas y el asesoramiento constante de profesionales especializados.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes internacionales

Giordano et al. (2025). El estudio se llevó a cabo en **Italia, en condiciones de campo**. El **objetivo** fue evaluar los efectos de extractos de taninos obtenidos por cavitación hidrodinámica y de *Chlorella vulgaris* sobre el crecimiento y rendimiento de plantas de fresa. La **metodología** consistió en aplicar foliarmente *C. vulgaris* al 50% y un tratamiento combinado de taninos con microalga, midiendo biomasa foliar, biomasa radical y producción de frutos. **Los resultados** mostraron que la aplicación foliar de *C. vulgaris* incrementó la biomasa fresca de hojas en un 14% y la biomasa fresca de raíces en un 20% respecto al control. El tratamiento combinado aumentó la biomasa radical fresca en un 32% y alcanzó el doble de frutos que el control. Además, este tratamiento presentó los contenidos más altos de zinc y hierro en raíces y hojas. **La conclusión** fue que los extractos de *C. vulgaris* y taninos, solos o combinados, representan una estrategia prometedora para mejorar la productividad del cultivo de fresa de manera sostenible.

Žunić et al. (2024). La investigación se realizó en **Eslovenia, en condiciones de campo con fresa cultivar 'Alba'**. El **objetivo** fue examinar el efecto foliar de bioestimulantes derivados de tres microalgas (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus vacuolatus* y *Coelastrella* sp.) en dos concentraciones (5% y 10%) sobre el crecimiento, productividad y calidad del fruto. La **metodología** incluyó la aplicación foliar de los bioestimulantes y la medición de rendimiento, azúcares y metabolitos secundarios. **Los resultados** demostraron que el tratamiento con *Coelastrella* sp. al 10% logró rendimientos superiores en más del 25% en comparación con las plantas no tratadas, y el contenido de azúcares y metabolitos secundarios fue más del 10% más alto que en los demás tratamientos. **La conclusión** fue que la aplicación de microalgas puede introducir avances positivos en la producción orgánica de fresa, mejorando tanto el rendimiento como la calidad del fruto.

Chabili et al. (2024). Este trabajo es una **revisión bibliográfica** realizada por investigadores de **Marruecos y Francia**. El **objetivo** fue presentar una síntesis exhaustiva sobre el uso de bioestimulantes basados en microalgas y cianobacterias en la agricultura. La **metodología** consistió en la recopilación y análisis crítico de la literatura científica disponible sobre selección de cepas, producción de biomasa, técnicas de

extracción y aplicaciones agrícolas. **Los resultados** destacan que estos microorganismos producen una amplia gama de metabolitos de alto valor, incluyendo fitohormonas (auxinas, citoquininas, giberelinas), polisacáridos, proteínas, vitaminas y antioxidantes. **La conclusión** señala que, si bien los bioestimulantes de macroalgas están más establecidos, las aplicaciones de microalgas en agricultura aún se encuentran en etapas tempranas, y su implementación comercial está limitada por la falta de investigación y los costos de producción.

Sani et al. (2024). La investigación se realizó en **Suecia y Malasia**, y consiste en una **revisión** sobre la transformación de digestatos de biogás en bioestimulantes. El **objetivo** fue analizar el potencial del cultivo de microalgas en digestatos líquidos para la recuperación de nutrientes y la producción de biomasa algal rica en compuestos bioactivos. La **metodología** incluyó la revisión de estudios sobre cultivo de *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. y *Nannochloropsis* sp. en digestatos. **Los resultados** muestran que las microalgas pueden acumular fitohormonas intracelularmente y excretarlas al medio extracelular, y correlacionan los atributos bioestimulantes con la presencia de metabolitos primarios, aminoácidos esenciales, vitaminas, osmolitos y polisacáridos. **La conclusión** enfatiza la necesidad de formulaciones optimizadas y técnicas de extracción estandarizadas para aplicaciones agrícolas más amplias.

Verma et al. (2025). Este artículo, publicado en *Frontiers in Plant Science*, es una **revisión** realizada por investigadores de **India y Australia**. El **objetivo** fue identificar estrategias para mejorar el potencial de los bioestimulantes microalgales en la mitigación del estrés abiótico en plantas. La **metodología** consistió en analizar cómo factores como las estrategias de cultivo (composición del medio, pH, temperatura, salinidad, luz), las técnicas de extracción y los métodos de aplicación influyen en la eficacia de estos bioestimulantes. **Los resultados** indican que los bioestimulantes microalgales mejoran consistentemente la tolerancia al estrés hídrico mediante la mejora de la acumulación de biomasa, la absorción de nutrientes y la eficiencia en el uso del agua. **La conclusión** señala que la mitigación del estrés salino es altamente dependiente de la especie, y el estrés por calor sigue siendo un área poco explorada que requiere más investigación.

2.1.2 Antecedentes nacionales

Salazar, Mendoza y Vásquez (2023). El estudio se realizó en el **Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.** El **objetivo** fue evaluar el efecto de tres cepas de microalgas (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* y *Nostoc commune*) en la micropropagación *in vitro* de *Solanum betaceum* (tomate de árbol). La **metodología** consistió en incorporar biomasa liofilizada en concentraciones de 0, 0.5, 1.0 y 2.0 g/L al medio MS y medir parámetros fisiológicos después de 45 días. **Los resultados** mostraron que los mejores resultados se obtuvieron con *Chlorella vulgaris* a 1.0 g/L, que incrementó el contenido de clorofila total en un 42%, la tasa fotosintética en un 35% y redujo la peroxidación lipídica en un 28% en comparación con el control. **La conclusión** fue que *C. vulgaris* actúa no solo como bioestimulante del crecimiento sino también como mitigador del estrés oxidativo en condiciones *in vitro*, mejorando la calidad fisiológica de las vitroplantas.

Campos y Ruiz (2024). La investigación se desarrolló en el **Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.** El **objetivo** fue optimizar un medio de cultivo suplementado con *Chlorella sorokiniana* para la micropropagación *in vitro* de *Physalis peruviana* (aguaymanto). La **metodología** empleó un diseño de superficie de respuesta para determinar la combinación óptima de biomasa microalgal, sales MS y sacarosa. **Los resultados** indicaron que la combinación óptima fue 0.8 g/L de biomasa microalgal con 50% de sales MS y 2% de sacarosa, lo que incrementó la tasa de multiplicación en 2.8 veces, redujo el tiempo de enraizamiento de 21 a 14 días y disminuyó los costos de producción en un 40%. **La conclusión** demostró la viabilidad técnica y económica de integrar microalgas en protocolos de micropropagación para cultivos andinos de alto valor comercial.

Torres, Rojas y Mendoza (2022). El estudio se llevó a cabo en el **Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú,** en la fase de aclimatización. El **objetivo** fue evaluar el efecto de extractos de *Chlorella vulgaris* en el crecimiento *ex vitro* de plántulas de *Fragaria × ananassa* previamente micropropagadas. La **metodología** consistió en aplicar riego con extracto al 1% cada 15 días durante 60 días después de la aclimatización. **Los resultados** mostraron que las plántulas tratadas alcanzaron una mayor altura (28.7 cm frente a 21.3 cm), un mayor

diámetro de corona (8.9 mm frente a 6.2 mm) y una mayor supervivencia (94% frente a 82%) en comparación con el control. **La conclusión** fue que *C. vulgaris* tiene un potencial bioestimulante en etapas posteriores a la micropropagación, con aplicaciones directas para la producción de material vegetal de calidad en condiciones peruanas.

Rojas (2023). La investigación se realizó en **Caraqueño, Pativilca, Perú**. El **objetivo** fue estudiar el efecto de bioestimulantes (aminoácidos, extractos de algas y ácidos fúlvicos) en el rendimiento del cultivo de tomate. La **metodología** utilizó un diseño de bloques al azar con la prueba de Scott & Nott al 5%, midiendo altura de planta, número y peso de frutos, diámetro del fruto y rendimiento. **Los resultados** mostraron que el tratamiento con extracto de algas (T2) alcanzó el mayor rendimiento (37.23 t/ha), seguido de aminoácidos (33.03 t/ha), ácido fúlvico (28.38 t/ha) y control (21.9 t/ha). **La conclusión** fue que el extracto de algas es el más efectivo para mejorar la producción de tomate en la zona de Huaura, lo que respalda el uso de bioestimulantes algales en condiciones agroecológicas peruanas.

Huamán y Quispe (2021). Este trabajo es una **revisión** realizada por investigadores de la **Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Perú**. El **objetivo** fue revisar las alternativas naturales a las fitohormonas sintéticas en la micropropagación de cultivos andinos, incluyendo el uso de extractos de macro y microalgas. La **metodología** consistió en la recopilación y análisis de literatura científica sobre la composición fitoquímica de microalgas y su aplicación en cultivos *in vitro*. **Los resultados** reportaron que los extractos de *Chlorella* sp. y *Spirulina* sp. contienen concentraciones detectables de zeatina (0.8-1.2 µg/g), ácido indolacético (1.5-2.3 µg/g) y giberelinas, con efectos positivos en la multiplicación *in vitro* de papa y mashua. **La conclusión** destacó la viabilidad técnica de incorporar estos bioestimulantes en medios de cultivo, aunque señaló la necesidad de estandarizar protocolos de extracción y dosificación para especies específicas.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Fragaria* × *ananassa*

La fresa es un híbrido resultante del cruzamiento entre *Fragaria virginiana* y *Fragaria chiloensis*, descubierto en Europa hace más de 300 años (Jhajhra et al., 2018). Pertenece a la familia Rosaceae, género *Fragaria*. Es una planta herbácea que se reproduce asexualmente mediante estolones y coronas. Existen más de 20

variedades y más de 1000 cultivares a nivel mundial. El fruto, conocido comercialmente como fresa, es en realidad un fruto falso (eterio) donde las pequeñas semillas son los frutos verdaderos (aquenios) (Maza & Silipú, 2008).

2.2.2 La fresa en el Perú

En el Perú, las empresas dedicadas a la agroexportación de fresa están mayoritariamente ubicadas en Huacho, donde en promedio se obtienen 120 toneladas mensuales. Las fresas se procesan para extraer pulpa, que se suministra a otras empresas para la elaboración de yogures, mermeladas, compotas, tartas, salsas y otros productos (Maza & Silipú, 2008).

2.2.3 Micropropagación

La micropropagación es una de las técnicas más empleadas del cultivo de tejidos *in vitro*, que permite obtener descendientes genéticamente idénticos (clones) a partir de fragmentos de plantas madre denominados explantes (Martínez & Gago, 2008). Entre sus ventajas destacan: altas tasas de reproducción, ocupación reducida de espacio, mejora del estado fitosanitario de los clones y la posibilidad de planificar la producción de manera eficiente (Gisbert & Picó, 2015).

2.2.4 Morfogénesis

La morfogénesis se refiere al proceso mediante el cual se forman y desarrollan los órganos de una planta, abarcando tanto el crecimiento como la diferenciación celular. En el cultivo *in vitro*, es posible inducir estos procesos debido a la totipotencia celular, que es la capacidad de las células vegetales para diferenciarse y luego volver a diferenciarse bajo estímulos apropiados (Gisbert, 2011).

2.2.5 *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris es una microalga verde unicelular perteneciente a la división Chlorophyta, clase Trebouxiophyceae. Fue aislada por primera vez por Beijerinck entre 1890 y 1893 (Preisig & Andersen, 2005). Sus células son esféricas o elipsoidales, con un tamaño que varía de 2 a 10 μm de diámetro (Borowitzka, 2013). Desde el punto de vista nutricional, *C. vulgaris* es rica en proteínas (hasta 61.6%), lípidos (12.5%), carbohidratos (13.7%), vitaminas del complejo B, C, D, E y minerales como potasio, magnesio, hierro y fósforo (Rodríguez & Guil, 2008; Bengwayan et al., 2010).

2.2.6 Cultivo de microalgas

Los cultivos de microalgas se diseñan para proporcionar condiciones óptimas con un costo mínimo de energía. Existen dos tipos principales de sistemas: **sistemas abiertos** (estanques sin mezclar con canales), donde no se controlan eficazmente los parámetros, y **sistemas cerrados** (fotobiorreactores tubulares), que permiten un control más preciso y son los más utilizados a nivel industrial para la producción de biomasa (Chang et al., 2017; Manzoni et al., 2021).

2.2.7 Parámetros de cultivo de *Chlorella*

El crecimiento de *Chlorella* sp. depende de factores ambientales como la luz (duración e intensidad), la composición nutricional, la temperatura, el pH y la salinidad (Wang et al., 2007; Seyfabadi et al., 2011). La luz es el factor abiótico más importante, y *C. vulgaris* crece mejor bajo iluminación continua con longitudes de onda de 450-475 nm y 630-675 nm (Cheirsilp & Torpee, 2012). El pH óptimo oscila entre 7.0 y 8.5 (Wang et al., 2010), y la temperatura ideal se encuentra entre 25 y 30°C (Sharma et al., 2012).

2.3 Bases filosóficas

El avance científico ha llevado a que la humanidad dependa en gran medida de la biotecnología, a menudo sin reflexionar sobre su propia autonomía y naturaleza. En este contexto, la ética juega un papel crucial al permitir un control social de la biotecnología, reflexionando sobre los principios científicos para asegurar que beneficien a la sociedad (Martínez et al., 2017). La Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO (2005) subraya que el bienestar de las personas debe tener prioridad sobre los intereses particulares de la ciencia o la sociedad (Ikeda, 2017).

2.4 Definición de términos básicos

- **Bioestimulantes:** Sustancias y/o microorganismos que estimulan los procesos naturales en las plantas, optimizando la absorción de nutrientes, aumentando la resistencia al estrés abiótico y mejorando características del cultivo.
- **Microalga:** Microorganismo microscópico fotosintético, eucariota, que puede crecer de manera autotrófica u heterotrófica.
- **In vitro:** Procedimientos realizados fuera del organismo, en un entorno de laboratorio controlado.

- **Biomasa:** Conjunto de microorganismos, plantas o animales presentes en un entorno específico en un momento determinado.
- **Medio de cultivo:** Solución líquida o superficie sólida que contiene nutrientes y factores de crecimiento para el desarrollo de microorganismos o células.
- **Reguladores de crecimiento:** Compuestos similares a las fitohormonas que regulan procesos bioquímicos a nivel celular en las plantas.
- **Micropropagación:** Aplicación del cultivo *in vitro* para generar descendencia uniforme de plantas genéticamente idénticas a partir de un explante.

2.5 Hipótesis de la investigación

2.5.1 Hipótesis general

La aplicación de un bioestimulante a partir de *Chlorella vulgaris* mejorará la micropropagación *in vitro* de *Fragaria × ananassa* (fresa).

2.5.2 Hipótesis específicas

- **HE1:** La cantidad de biomasa de *Chlorella vulgaris* influye en la micropropagación *in vitro* de fresa.
- **HE2:** Existen diferencias significativas en las fases de multiplicación y enraizamiento ante la aplicación de los tratamientos.
- **HE3:** Se obtendrá una respuesta positiva en el cultivo *in vitro* de fresa ante la inoculación de *Chlorella vulgaris*.

2.6 Operacionalización de las variables

Tabla 1

Operacionalización de variables

Variable	Dimensiones	Indicadores	Escala
Independiente: Bioestimulante de <i>Chlorella vulgaris</i>	Cultivo microalgal	Crecimiento microalgal	% de incremento
	Obtención de biomasa	Peso de biomasa	Gramos (g)
	Inoculación en medio	Concentraciones aplicadas	0, 1, 4, 8 g/L (multiplicación); 0, 0.5, 1, 2 g/L (enraizamiento)
Dependiente: Micropropagación <i>in vitro</i> de fresa	Respuesta de explantes	Número de brotes, hojas, raíces; longitud de brotes y raíces	Unidades, mm, %

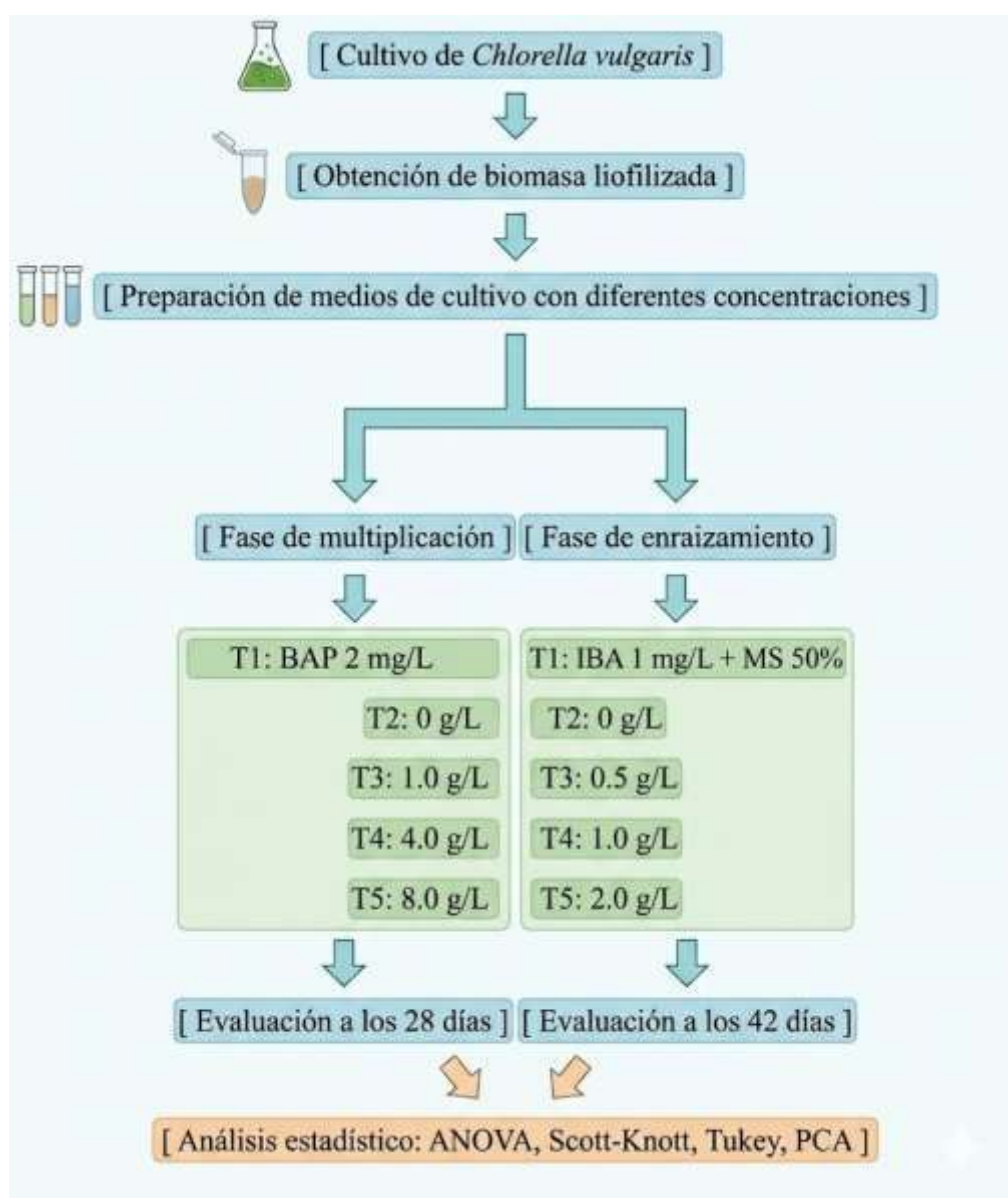
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

La investigación fue de **tipo experimental** con enfoque **cuantitativo**, ya que se manipularon las concentraciones del bioestimulante y se evaluaron las variables de respuesta mediante mediciones objetivas. Se empleó un **Diseño Completamente Aleatorizado (DCA)** con arreglo bifactorial (concentración de biomasa × fase de desarrollo).

Figura 1.

Diagrama de flujo del diseño experimental



3.2 Población y muestra

Población: Vitroplantas de *Fragaria × ananassa* variedad San Andreas pertenecientes al laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del INIA Donoso - Huaral.

Muestra: 188 explantes de brotes (segmentos nodales de 1-2 cm), recolectados 30 días después del establecimiento *in vitro*. El tamaño muestral se calculó considerando un nivel de confianza del 95%, poder estadístico del 80% y una diferencia mínima detectable del 25%, con 15 repeticiones por tratamiento y un 25% de reserva técnica.

3.3 Tratamientos evaluados

3.3.1 Fase de multiplicación

Tabla 2

Tratamientos en fase de multiplicación

Tratamiento	Medio de cultivo	Variedad
T1	MS + 2 mg/L BAP (control positivo)	San Andreas
T2	MS + 0 g/L de biomasa (control negativo)	San Andreas
T3	MS + 1.0 g/L de biomasa	San Andreas
T4	MS + 4.0 g/L de biomasa	San Andreas
T5	MS + 8.0 g/L de biomasa	San Andreas

3.3.2 Fase de enraizamiento

Tabla 3

Tratamientos en fase de enraizamiento

Tratamiento	Medio de cultivo	Variedad
T1	MS 50% + 1 mg/L IBA (control positivo)	San Andreas
T2	MS 50% + 0 g/L de biomasa (control negativo)	San Andreas
T3	MS 50% + 0.5 g/L de biomasa	San Andreas
T4	MS 50% + 1.0 g/L de biomasa	San Andreas

Tratamiento	Medio de cultivo	Variedad
T5	MS 50% + 2.0 g/L de biomasa	San Andreas

3.4 Procedimiento experimental

3.4.1 Cultivo de *Chlorella vulgaris*

La cepa de *Chlorella vulgaris* fue adquirida en Algatech Biotechnology. Se cultivó en medio alternativo BIOFERPEZ (biofertilizante elaborado a partir de residuos de pescado), preparando una solución de 3 ml por litro de agua destilada, ajustando el pH a 7 y esterilizando en autoclave. La inoculación se realizó con 100 ml de muestra en un matraz con 1 L de medio, bajo condiciones controladas: pH 6-7, temperatura 25-30°C, agitación por burbujeo con sistema de aireación, e iluminación con lámparas fluorescentes de 2000 lux a 10 cm de distancia, con 16h luz y 8 h oscuridad.

3.4.2 Obtención de biomasa liofilizada

La biomasa se recuperó por sedimentación por gravedad (12 horas), se retiró el agua sobrenadante, y el concentrado se colocó en placas Petri. Las placas se sometieron a ultracongelación a -25°C por 24 horas, luego a liofilización por 24 horas. La biomasa en polvo se almacenó en envases de plástico color ámbar con agentes deshidratantes a 4-10°C.

3.4.3 Siembra de explantes y aplicación de tratamientos

Los explantes de fresa (segmentos nodales de 1-2 cm) se sembraron en los medios de cultivo correspondientes según la fase. En la fase de multiplicación, la evaluación se realizó a los 28 días. En la fase de enraizamiento, los brotes con mejor crecimiento de la fase anterior se transfirieron a los tratamientos de enraizamiento y se evaluaron a los 42 días.

3.5 Variables de respuesta

- **Número de brotes** (a los 28 días)
- **Longitud de brotes** (mm)
- **Número de hojas** totales expandidas

- **Número de raíces**
- **Longitud de raíces (mm)**
- **Crecimiento relativo:** (tamaño final - tamaño inicial) / tamaño inicial
- **Porcentaje de enraizamiento**

3.6 Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) de una vía, previa verificación de los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene). Las comparaciones múltiples de medias se realizaron mediante la prueba de Scott-Knott (para multiplicación) y Tukey (para enraizamiento), con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Adicionalmente, se realizaron análisis de componentes principales (PCA) para explorar la estructura multivariada de los datos. Todos los análisis se ejecutaron con el software R v4.3.1.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Resultados de la fase de multiplicación

4.1.1 Número de brotes

Tabla 4

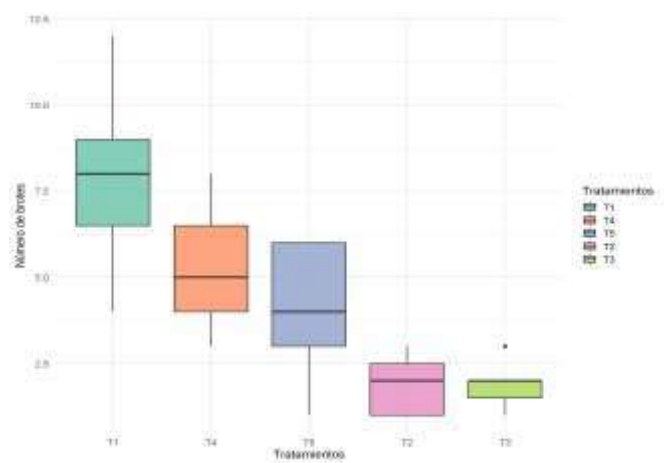
Estadística descriptiva del número de brotes por tratamiento

Tratamiento	n	Media	SD	Mín	Máx	SE
T1	15	7.80	2.18	4	12	0.56
T2	15	1.93	0.80	1	3	0.21
T3	15	2.00	0.85	1	3	0.22
T4	15	5.20	1.70	3	8	0.44
T5	15	4.20	1.74	1	6	0.45

Nota: El análisis de varianza reveló diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($F = 37.37$; $p < 0.001$). La prueba de Scott-Knott identificó cuatro grupos estadísticamente distintos. El tratamiento T1 (BAP) presentó el mayor promedio (7.80 brotes), ubicándose en el grupo "a". Le siguieron T4 (5.20 brotes, grupo "b") y T5 (4.20 brotes, grupo "c"). Los tratamientos T2 (1.93 brotes) y T3 (2.00 brotes) conformaron el grupo de menor desempeño ("d").

Figura 2.

Diagrama de cajas del número de brotes por tratamiento en la fase de multiplicación



Nota: Diagrama de cajas del número de brotes por tratamiento en la fase de multiplicación. Se observa la clara superioridad de T1, cuya mediana y rango intercuartílico se ubican muy por encima de los demás tratamientos. T4 y T5 presentan distribuciones intermedias bien separadas del control (T2) y T3.

4.1.2 Número de hojas

Tabla 5

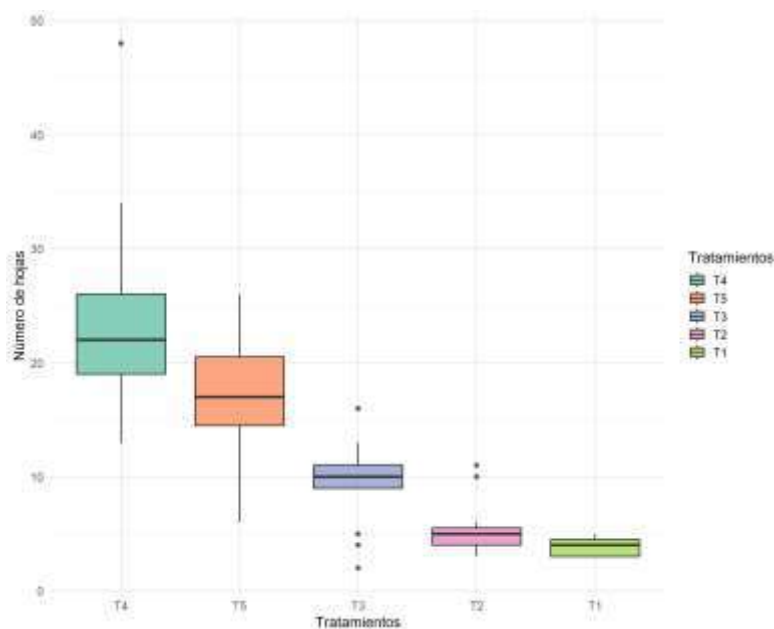
Estadística descriptiva del número de hojas por tratamiento

Tratamiento	n	Media	SD	Mín	Máx	SE
T1	15	3.87	0.83	3	5	0.22
T2	15	5.40	2.23	3	11	0.58
T3	15	9.07	3.69	2	16	0.95
T4	15	23.80	8.39	13	48	2.17
T5	15	16.73	5.82	6	26	1.50

Nota: El número de hojas fue la variable más sensible a la adición de biomasa microalgal. El ANOVA mostró diferencias altamente significativas ($F = 42.45$; $p < 0.001$). El tratamiento T4 (4.0 g/L) alcanzó el mayor promedio (23.80 hojas), superando ampliamente a T1 (3.87 hojas) y T2 (5.40 hojas). Le siguió T5 (16.73 hojas), mientras que T3 mostró un valor intermedio (9.07 hojas).

Figura 3.

Diagrama de cajas del número de hojas por tratamiento



Nota: Diagrama de cajas del número de hojas por tratamiento. Se destaca la amplia separación de T4 y T5 respecto a los demás tratamientos. T4 presenta la mediana más alta con un rango intercuartílico que refleja su alta capacidad de foliación. El punto atípico de T4 (48 hojas) refleja la excepcional respuesta de algunos explantes a esta concentración de biomasa.

4.1.3 Longitud de brotes y número de raíces en multiplicación

Tabla 6

Resumen de resultados para longitud de brotes y número de raíces

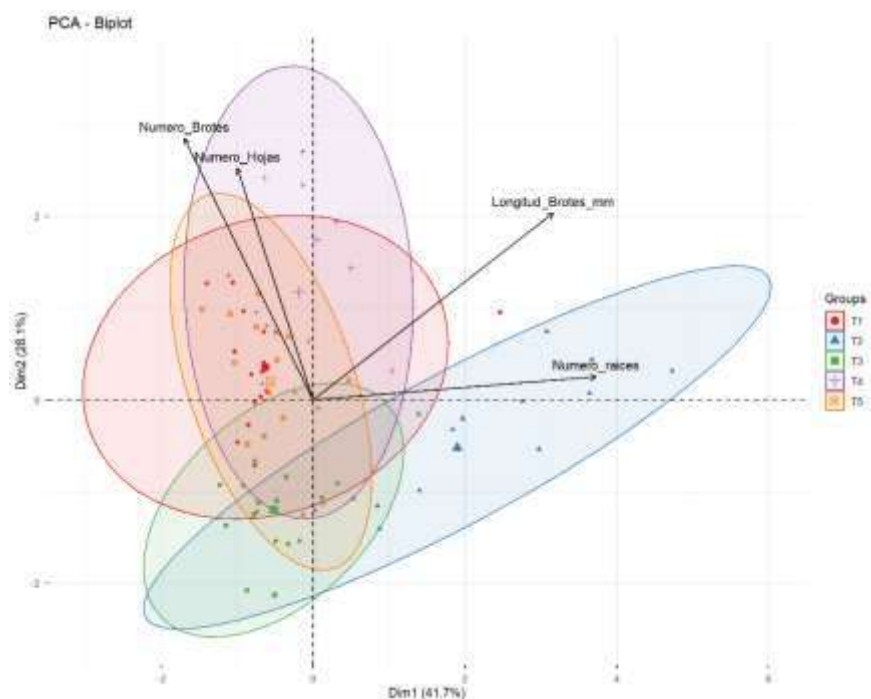
Variable	Mejor tratamiento	Valor	Significancia
Longitud de brotes (mm)	T2	2.27 mm	Grupo "a" (Scott-Knott)
Número de raíces	T2	6.07 raíces	Grupo "a" (Scott-Knott)

El tratamiento T2 (control sin BAP) presentó la mayor longitud de brotes (2.27 mm) y el mayor número de raíces (6.07), evidenciando un trade-off entre proliferación y elongación: los explantes sin estímulo hormonal canalizan recursos hacia el crecimiento longitudinal y radical en lugar de la ramificación.

4.1.4 Análisis de componentes principales (PCA) - Multiplicación

Figura 4.

Biplot PCA de la fase de multiplicación



Nota: Biplot PCA de la fase de multiplicación. Los vectores representan las variables morfológicas y las elipses de confianza agrupan a los individuos por tratamiento (T1–T5). Los dos primeros componentes explican el 69.8% de la varianza total.

El PCA de la fase de multiplicación explicó el 69.8% de la varianza total mediante los dos primeros componentes (Dim1: 41.7%; Dim2: 28.1%). Dim1 se asoció con elongación y desarrollo radical, dominado por las variables longitud de brotes y número de raíces. Dim2 representó el vigor vegetativo aéreo, influenciado por número de brotes y número de hojas. Los tratamientos se agruparon en torno a dos estrategias funcionales contrastantes: T1 priorizó la ramificación aérea, mientras que T4 y T5 mostraron un perfil más equilibrado con alto desarrollo foliar.

4.2 Resultados de la fase de enraizamiento

4.2.1 Altura final y crecimiento relativo

Tabla 7

Estadística descriptiva de la altura final (mm) y crecimiento relativo

Tratamiento	Altura final (mm)	Crecimiento relativo	Grupo (Tukey)
T1	2.45 a	3.78 a	a
T2	1.31 b	1.85 b	b
T3	1.13 b	1.34 b	b
T4	1.23 b	2.02 b	b
T5	1.51 b	1.95 b	b

El tratamiento T1 (IBA) presentó la mayor altura final (2.45 mm) y el mayor crecimiento relativo (3.78), siendo significativamente superior a todos los demás tratamientos ($p < 0.001$). Los tratamientos con biomasa (T3, T4, T5) no mostraron diferencias significativas entre sí para estas variables.

4.2.2 Número y longitud de raíces en enraizamiento

Tabla 8

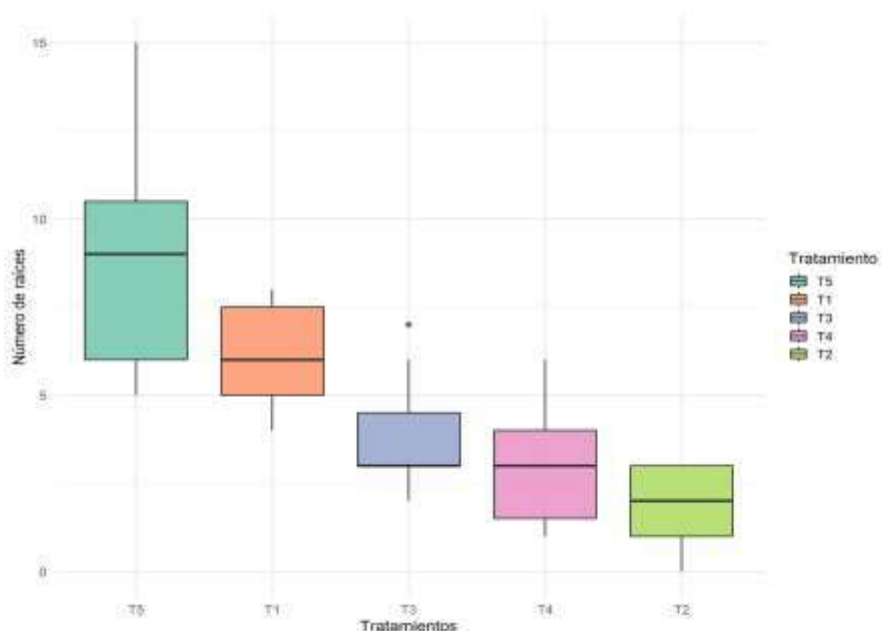
Estadística descriptiva del número y longitud de raíces

Tratamiento	Número de raíces	Grupo (Tukey)	Longitud de raíces (mm)	Grupo (Tukey)
T1	6.13	b	4.98	a
T2	1.93	d	1.07	b
T3	3.80	c	0.83	b
T4	3.00	c	1.47	b
T5	8.73	a	1.23	b

Nota: El resultado más destacado de esta fase fue el comportamiento del tratamiento T5 (2.0 g/L de biomasa), que alcanzó el mayor número promedio de raíces (8.73), superando incluso al control con IBA (T1: 6.13 raíces). La prueba de Tukey ubicó a T5 en el grupo "a" y a T1 en el grupo "b". Sin embargo, en cuanto a la longitud de raíces, T1 fue superior (4.98 mm, grupo "a"), mientras que T5 mostró valores bajos (1.23 mm, grupo "b"), similares a los controles.

Figura 5.

Diagrama de cajas del número de raíces por tratamiento en enraizamiento

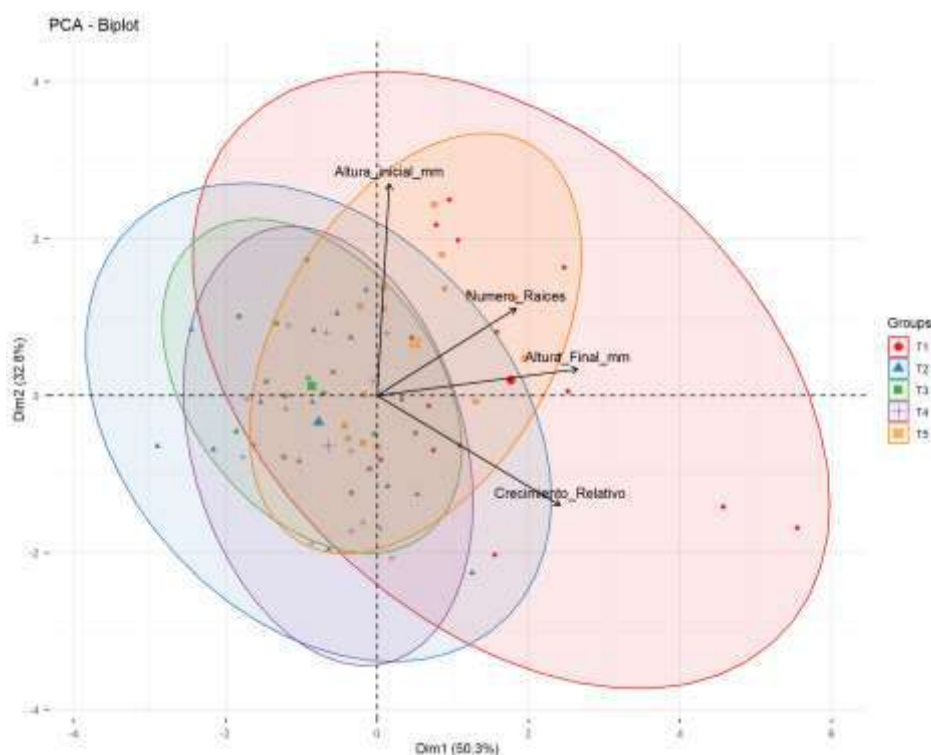


Nota: Diagrama de cajas del número de raíces por tratamiento en enraizamiento. T5 presenta la mediana más alta y un amplio rango, superando claramente a T1 (IBA). T2 muestra los valores más bajos.

4.2.3 Análisis de componentes principales (PCA) - Enraizamiento

Figura 6.

Biplot PCA de la fase de enraizamiento



Nota: Biplot PCA de la fase de enraizamiento. Los vectores representan las variables morfométricas evaluadas y las elipses agrupan a los individuos por tratamiento. Los dos primeros componentes explican el 83.1% de la varianza total.

El PCA de la fase de enraizamiento explicó el 83.1% de la varianza total (Dim1: 50.3%; Dim2: 32.8%). Dim1 se interpretó como un eje de desempeño funcional post-trasplante, dominado por altura final y crecimiento relativo. Dim2 representó la condición inicial del explante. Un hallazgo relevante fue que la altura inicial no predijo el desempeño posterior, demostrando que el éxito fisiológico dependió del tratamiento aplicado y no del tamaño del explante al trasplante.

4.3 Síntesis integrada de resultados

Tabla 9

Resumen integrado de resultados según objetivos específicos

Objetivo específico	Hallazgo principal	Soporte estadístico
OE1: Determinar la cantidad óptima de biomasa	4.0 g/L maximiza el número de hojas (23.80); 2.0 g/L maximiza el número de raíces en enraizamiento (8.73)	Scott-Knott: T4 grupo "a" para hojas; Tukey: T5 grupo "a" para raíces
OE2: Diferencias entre fases de multiplicación y enraizamiento	En multiplicación, T1 (BAP) destaca en brotes; T4 en hojas. En enraizamiento, T1 (IBA) destaca en altura y longitud radical; T5 en número de raíces	PCA: 69.8% varianza en multiplicación; 83.1% en enraizamiento
OE3: Respuesta positiva ante inoculación de <i>C. vulgaris</i>	La microalga mejoró significativamente la foliación (T4) y la formación de raíces (T5) respecto al control, aunque no superó al BAP en número de brotes ni al IBA en elongación radical	ANOVA significativo ($p < 0.001$) para todas las variables

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

5.1 Bioestimulante de *Chlorella vulgaris* modulador de la morfogénesis

Los resultados obtenidos demuestran que la incorporación de biomasa liofilizada de *Chlorella vulgaris* en el medio de cultivo modifica significativamente los patrones de crecimiento y desarrollo de los explantes de fresa, confirmando la hipótesis general planteada. Sin embargo, el efecto del bioestimulante fue variable según la concentración utilizada y la fase del cultivo, lo que sugiere que su acción no es equivalente a la de una fitohormona sintética pura, sino más bien a la de un **complejo bioquímico multifuncional**.

El hecho de que el tratamiento T4 (4.0 g/L) haya producido el mayor número de hojas (23.80), superando ampliamente al control con BAP (3.87 hojas), indica que *C. vulgaris* aporta compuestos que estimulan la expansión y diferenciación foliar de manera más efectiva que una citoquinina aislada. Este hallazgo concuerda con lo reportado por **Chiaiese et al. (2021)** y con los antecedentes nacionales de **Salazar et al. (2023)**, quienes observaron incrementos significativos en clorofila y tasa fotosintética al suplementar con *C. vulgaris*. También se alinea con **Torres et al. (2022)**, quienes encontraron un mayor desarrollo de plántulas de fresa tratadas con extractos de *C. vulgaris* durante la aclimatización.

Desde una perspectiva fisiológica, la superioridad de T4 sobre T5 (8.0 g/L) en la producción de hojas (23.80 vs 16.73) sugiere una **respuesta no lineal con un óptimo en torno a 4 g/L**. Concentraciones más elevadas podrían generar efectos osmóticos adversos o acumulación de metabolitos secundarios inhibitorios, fenómeno documentado por **Žunić et al. (2024)**, quienes encontraron que concentraciones del 10% de *Coelastrella* sp. fueron más efectivas que concentraciones más bajas, pero con diferencias según la especie de microalga.

5.2 La paradoja del enraizamiento: cantidad vs. calidad

Uno de los hallazgos más novedosos de esta investigación fue el comportamiento contrastante del tratamiento T5 (2.0 g/L de biomasa) en la fase de enraizamiento. Por un lado, este tratamiento indujo el mayor número de raíces (8.73), superando incluso al control con IBA (6.13 raíces); pero, por otro lado, la longitud de esas raíces fue significativamente menor (1.23 mm) en comparación con el tratamiento hormonal (4.98

mm). Este patrón sugiere que los compuestos bioactivos presentes en la biomasa microalgal a alta concentración promueven la **iniciación de primordios radiculares** (efecto cuantitativo), pero carecen de los estímulos necesarios para la **elongación subsiguiente** (efecto cualitativo).

Este resultado puede explicarse considerando la composición fitoquímica de *C. vulgaris*. Si bien se ha documentado la presencia de ácido indolacético (AIA) en extractos de esta microalga (Stirk et al., 2013), su concentración probablemente es insuficiente para sostener el proceso de elongación celular. Además, la presencia simultánea de citoquininas podría estar antagonizando parcialmente el efecto de las auxinas sobre la elongación, fenómeno bien conocido en la fisiología vegetal (García-González et al., 2020).

Comparando con estudios previos, **Giordano et al. (2025)** encontraron que la aplicación combinada de taninos con *C. vulgaris* aumentó la biomasa radical fresca en un 32% en fresa, lo que respalda nuestro hallazgo de un fuerte efecto rizogénico. Sin embargo, **Campos y Ruiz (2024)**, en aguaymanto, reportaron una reducción del tiempo de enraizamiento de 21 a 14 días con *Chlorella sorokiniana*, sugiriendo que los efectos pueden variar según la especie de microalga y el cultivo.

5.3 Implicaciones biotecnológicas y sostenibilidad

Desde una perspectiva aplicada, nuestros resultados ofrecen un panorama matizado sobre el potencial de *C. vulgaris* como sustituto parcial de fitohormonas sintéticas. En la fase de multiplicación, ningún tratamiento con biomasa igualó al BAP en número de brotes, lo que indica que, para fines comerciales donde la máxima tasa de multiplicación es el objetivo principal, el BAP sigue siendo insustituible. Sin embargo, cuando el objetivo es obtener plantines con mayor área foliar (potencialmente más vigorosos y con mejor capacidad fotosintética), la incorporación de 4 g/L de biomasa de *C. vulgaris* resulta superior al BAP y al control.

En la fase de enraizamiento, la biomasa a 2 g/L demostró ser una herramienta valiosa para inducir una alta densidad radical, lo que podría traducirse en una mejor absorción de nutrientes y una climatización más exitosa. **Torres et al. (2022)** ya habían observado que el tratamiento con extractos de *C. vulgaris* durante la climatización de fresas mejoraba la supervivencia del 82% al 94%. Nuestros resultados sugieren que este beneficio podría deberse, al menos en parte, a la mayor densidad radical inducida *in vitro*.

Finalmente, es importante destacar que el cultivo de *Chlorella vulgaris* puede realizarse utilizando medios alternativos de bajo costo, como el biofertilizante BIOFERPEZ empleado en este estudio, lo que hace que su producción sea viable incluso para laboratorios con recursos limitados. Esto alinea la investigación con los principios de la **bioeconomía circular** y la **agricultura sostenible** (Fernández et al., 2021), y responde a las necesidades identificadas por **Huamán y Quispe (2021)** sobre la estandarización de protocolos de extracción y dosificación.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Primera: La aplicación del bioestimulante de *Chlorella vulgaris* influyó significativamente en la micropropagación *in vitro* de *Fragaria × ananassa* variedad San Andreas, aunque con un perfil de acción distinto al de las fitohormonas sintéticas BAP e IBA.

Segunda: La concentración óptima de biomasa microalgal varió según la variable de respuesta: 4.0 g/L maximizó el número de hojas en la fase de multiplicación (23.80 hojas), mientras que 2.0 g/L en la fase de enraizamiento indujo el mayor número de raíces (8.73 raíces), superando incluso al control con IBA.

Tercera: Se establecieron diferencias significativas entre las fases de multiplicación y enraizamiento. En multiplicación, el BAP (T1) fue superior para el número de brotes; en enraizamiento, el IBA (T1) fue superior para altura final y longitud de raíces, mientras que la biomasa a 2 g/L (T5) fue superior para el número de raíces.

Cuarta: La respuesta del cultivo *in vitro* ante la inoculación de *Chlorella vulgaris* fue positiva en términos de desarrollo foliar y formación de raíces, aunque no logró reemplazar completamente al BAP en la inducción de brotes ni al IBA en la elongación radicular.

Quinta: El análisis multivariado (PCA) reveló dos estrategias funcionales contrastantes en multiplicación (ramificación aérea vs. desarrollo foliar) y demostró que, en enraizamiento, el tamaño inicial del explante no predice su desempeño posterior.

6.2 Recomendaciones

Primera: Se recomienda validar estos resultados a escala piloto, trasladando las plántulas de los tratamientos T4 (multiplicación) y T5 (enraizamiento) a condiciones de invernadero para evaluar su comportamiento durante la aclimatización y el rendimiento en campo.

Segunda: Realizar análisis fitoquímicos (HPLC o ELISA) de la biomasa de *Chlorella vulgaris* para cuantificar las concentraciones de auxinas, citoquininas, giberelinas y ácido abscísico, lo que permitiría correlacionar la dosis de fitohormonas con la respuesta morfogénica observada.

Tercera: Explorar tratamientos combinados (dosis bajas de BAP + biomasa, o IBA + biomasa) para intentar sinergizar los efectos: alta multiplicación de brotes con buen desarrollo foliar, o alta densidad radical con adecuada elongación.

Cuarta: Evaluar otras especies de microalgas nativas peruanas (por ejemplo, *Scenedesmus* sp., *Nostoc* sp.) para identificar cepas con perfiles fitoquímicos aún más favorables para la micropropagación de fresa y otros cultivos de interés comercial.

Quinta: Estandarizar un protocolo de producción de biomasa de *Chlorella vulgaris* utilizando residuos agroindustriales como sustrato, reduciendo aún más los costos y promoviendo la economía circular en el sector agrario peruano.

Sexta: Para futuras investigaciones en la fase de enraizamiento, se recomienda estandarizar el medio base (utilizando MS al 50% en todos los tratamientos, incluidos los controles negativos y los tratamientos con biomasa) con el fin de aislar correctamente el efecto del bioestimulante o la fitohormona sin la interferencia de diferencias en la concentración de sales minerales.

CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, F., Appelmann, T., & Garcés, L. (2020). Import and export of strawberries in a global market. En J. A. Sepúlveda (Ed.), *Ciencias económicas y contables, desafíos y retos para la competitividad* (pp. 280-291). Coruniamericana.
- Bengwayan, P., Laygo, J., Pacio, A., Poyaoan, J., Rebugio, J., & Yuson, A. (2010). A comparative study on the antioxidant property of *Chlorella* (*Chlorella* sp.) tablet and glutathione tablet. *E-International Scientific Research Journal*, *2*(1), 25-35.
- Borowitzka, M. (2013). Dunaliella: Biology, production, and markets. En Q. Hu & A. Richmond (Eds.), *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology* (2ª ed., pp. 359-368). Wiley Blackwell.
- Campos, L., & Ruiz, D. (2024). Optimización de un medio de micropropagación suplementado con *Chlorella sorokiniana* para *Physalis peruviana*: Reducción de costos y mejora de eficiencia. *Biotecnología Vegetal Andina*, *8*(1), 45-60.
- Chabili, A., Minaoui, F., Hakkoum, Z., Douma, M., Meddich, A., & Loudiki, M. (2024). A comprehensive review of microalgae and cyanobacteria-based biostimulants for agriculture uses. *Plants*, *13*(2), 159. <https://doi.org/10.3390/plants13020159>
- Chang, J., Show, P., Ling, T., Chen, C., Ho, S., Tan, C., Nagarajan, D., & Phong, W. (2017). Photobioreactors. En C. Larroche, M. Sanromán, G. Du, & A. Pandey (Eds.), *Current developments in biotechnology and bioengineering: Bioprocesses, bioreactors and controls* (pp. 313-352). Elsevier.
- Cheirsilp, B., & Torpee, S. (2012). Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture conditions: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology*, *110*, 510-516.
- Fernández, F. G. A., Reis, A., Wijffels, R. H., Barbosa, M., Verdelho, V., & Llamas, B. (2021). The role of microalgae in the bioeconomy. *New Biotechnology*, *61*, 99-107.
- García-González, J., Moreno, J., Manzano, J. C., Guerrero, M. G., & Serrano, A. (2020). Microalgae as biostimulants for higher plants: Towards sustainable production of planting material. *Journal of Applied Phycology*, *32*(6), 3805-3816.

- Giordano, C., Ugolini, F., Faraloni, C., Dal Prà, A., Sabatini, F., Meneguzzo, F., & Petruccelli, R. (2025). Beyond conventional fertilizer: Tannin–*Chlorella vulgaris* blends as biostimulants for growth and yield enhancement of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch). *Agriculture*, *15*(23), 2459. <https://doi.org/10.3390/agriculture15232459>
- Gisbert, C. (2011). *Morfogénesis: La ruta organogénica versus la ruta embriogénica*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Gisbert, C., & Picó, M. (2015). *Micropropagación*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Huamán, L., & Quispe, R. (2021). Alternativas naturales a las fitohormonas sintéticas en la micropropagación de cultivos andinos: Una revisión. *Scientia Agropecuaria*, *12*(3), 367-378.
- Ikeda, M. (2017). Biología molecular aplicada a la estomatología en el siglo XXI: Avances, bioética y educación científica. *Revista Estomatológica Herediana*, *27*(1), 59-63.
- Jhajhra, S., Dashora, L., Singh, J., Bhatnagar, P., Kumar, A., & Arya, C. (2018). *In-vitro* propagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*(10), 3030-3035.
- Mamani, B., & Murillo, R. (2020). Micropropagación de dos variedades de frutilla (*Fragaria ananassa* Duch.) en diferentes medios de cultivo. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, *7*(1), 69-78.
- Manzoni, M., Montenegro, C., & Martínez, A. (2021). Perspectivas sobre los sistemas de cultivo de microalgas: Una revisión crítica. *Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C.*, *25*(5), 11-34.
- Martínez, J., del Valle, Y., & Jesús, C. (2017). Transhumanismo. Visiones y contextos. *Revista Guayana Virtual*, *1*(1), 14-24.
- Martínez, L., & Gago, J. (2008). Micropropagación vegetal. *Rebigo*, *3*, 60-65.
- Maza, S., & Silipú, L. (2008). *Estudio de la fresa en el Perú y el Mundo*. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI).

- MIDAGRI. (2024). *Anuario estadístico de producción agrícola 2023*. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego del Perú.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*(3), 473-497.
- Preisig, H., & Andersen, R. (2005). Historical review of algal culturing techniques. En R. Andersen (Ed.), *Algal culturing techniques* (pp. 1-12). Elsevier Academic Press.
- Puscan, R. (2023). *Efecto de las citocininas en la propagación in vitro de tres cultivares de fresa (Fragaria x ananassa Duch)* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas].
- Red Agrícola. (2021). *Portal de noticias agropecuarias*. <https://www.redagricola.com/pe/canal/frutales/fresas/>
- Rodríguez, I., & Guil, J. (2008). Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chemistry*, *108*(3), 1023-1026.
- Rojas, C. (2023). *Efectos de la aplicación de bioestimulantes en el rendimiento del cultivo de Solanum Lycopersicum L. "tomate" bajo condiciones de Pativilca* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión].
- Rupawalla, Z., Shaw, L., Ross, I. L., Schmid-Siebert, E., Hankamer, B., & Wolf, J. (2022). Germination screen for microalgae-generated plant growth biostimulants. *Algal Research*, *66*, Article 102784.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *35*, 265-278.
- Salazar, R., Mendoza, P., & Vásquez, H. (2023). Efecto de microalgas nativas en parámetros fisiológicos y bioquímicos durante la micropropagación *in vitro* de *Solanum betaceum*. *Revista Peruana de Biología*, *30*(2), e23458.
- Sani, M. N. H., Amin, M., Bergstrand, K. J., Caspersen, S., Prade, T., & Yong, J. W. H. (2024). Harnessing biostimulants from biogas digestates for high-value resource recovery: A review. *Environmental Chemistry Letters*, *23*, 139-164.

- Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z., & Khoeyi, Z. (2011). Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*, *23*(4), 721-726.
- Sharma, R., Singh, G., & Sharma, V. (2012). Effects of culture conditions on growth and biochemical profile of *Chlorella*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, *3*(5), 1-6.
- Sigma-Aldrich. (2016). *Catálogo de productos químicos y reactivos*. <https://www.sigmaaldrich.com>
- Stirk, W., Bálint, P., Tarkowská, D., Novák, O., Strnad, M., Ördög, V., & van Staden, J. (2013). Hormone profiles in microalgae: Gibberellins and brassinosteroids. *Plant Physiology and Biochemistry*, *70*, 348-353.
- Torres, M., Rojas, A., & Mendoza, J. (2022). Efecto de extractos de *Chlorella vulgaris* en la aclimatación de plántulas de fresa (*Fragaria* × *ananassa*) micropropagadas. *Revista de Investigación de la Universidad Nacional Agraria La Molina*, *23*(2), 45-56.
- Verma, H., et al. (2025). How to improve the potential of microalgal biostimulants for abiotic stress mitigation in plants? *Frontiers in Plant Science*, *16*, 1568423. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1568423>
- Wang, C., Fu, C., & Liu, Y. (2007). Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering Journal*, *37*(1), 21-25.
- Wang, C., Li, H., Wang, Q., & Wei, P. (2010). Effect of pH on growth and lipid content of *Chlorella vulgaris* cultured in biogas slurry. *Chinese Journal of Biotechnology*, *26*(8), 1074-1079.
- Žunić, V., Hajnal-Jafari, T., Stamenov, D., Tomić, J., Pešaković, M., Grohar, M. C., Štampar, F., Veberič, R., Hudina, M., & Jakopič, J. (2024). Application of microalgae-based biostimulants in sustainable strawberry production. *Journal of Applied Phycology*, *36*(3), 1219-1231.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha de recolección de datos

Ficha de registro de variables morfológicas para micropropagación de fresa con
bioestimulante de *Chlorella vulgaris*

ANEXO 1. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Campo	Registro
Investigador	_____
Fecha	____ / ____ / 2025
Tratamiento	☐ T1 ☐ T2 ☐ T3 ☐ T4 ☐ T5
Fase	☐ Multiplicación ☐ Enraizamiento
Repetición N°	_____
Código del explante	_____

I. DATOS DEL TRATAMIENTO

Parámetro	Valor
Biomasa de <i>C. vulgaris</i> (g/L)	_____
Medio de cultivo	☐ MS ☐ MS 50% ☐ MS+BAP ☐ MS+IBA
Días en cultivo	_____

II. VARIABLES MORFOMÉTRICAS

Variable	Unidad	Valor
Número de brotes	ud	_____
Longitud del brote principal	mm	_____
Número de hojas expandidas	ud	_____
Número de raíces	ud	_____
Longitud de raíz más larga	mm	_____

Variable	Unidad	Valor
Crecimiento relativo	(final-inicial) /inicial	_____
Porcentaje de enraizamiento	%	_____

III. OBSERVACIONES CUALITATIVAS

Indicador	Marque
Coloración foliar	☐ Verde intenso ☐ Verde pálido ☐ Amarillento
Vigor aparente	☐ Robusto ☐ Moderado ☐ Débil
Contaminación	☐ Sí ☐ No
Color de raíces	☐ Blanca ☐ Parda

Notas: _____

Firma: _____

- Se digitalizará los datos diariamente en hoja de cálculo Excel.

Anexo 2.

Documentación fotográfica de las etapas clave del experimento

Figura 7

Cultivo de microalgas



Nota; Instalación de los biorreactores para el cultivo de *Chlorella*, con un sistema de aireación y agitación por burbujeo, además de un sistema de iluminación con lámparas fluorescentes de 2000lx con una distancia de 10cm de cultivo.

Figura 8

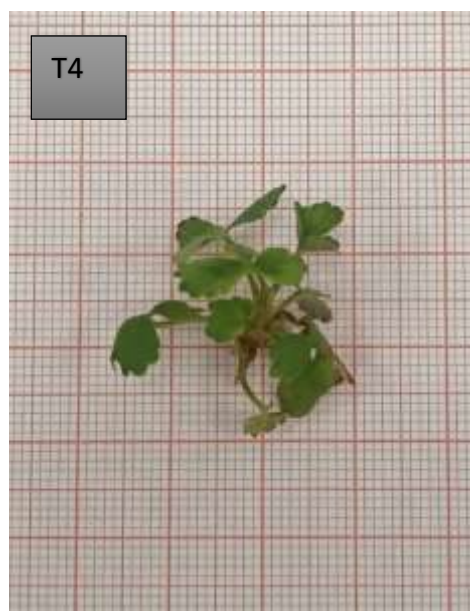
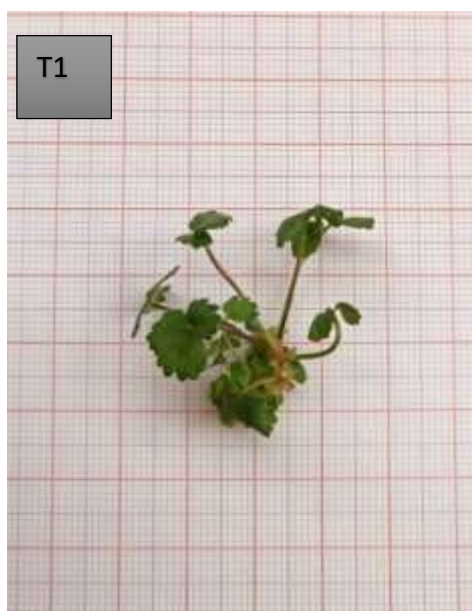
Biomasa liofilizada



Nota: Preparación de medio con microalgas para los tubos de ensayo

Figura 9

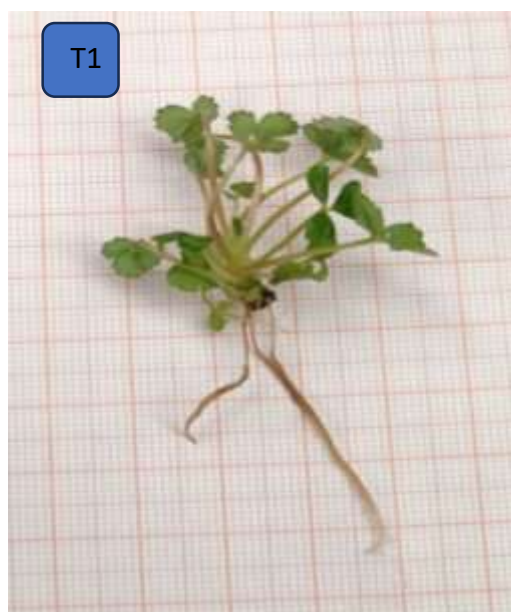
Fase de multiplicación (día 28)



Nota: Comparación de tratamientos: T1 (BAP) con alta proliferación de brotes; T4 (4 g/L biomasa) con excelente desarrollo foliar.

Figura 10

Fase de enraizamiento (día 42)



Nota: Comparación de raíces: T5 (2 g/L biomasa) con alta densidad de raíces; T1 (IBA) con raíces más largas.

Figura 11

Tubos con medios de cultivo para reproducción vegetativa.



Nota: Tratamiento de fase multiplicación, visualizado en tubos, debidamente rotulados e identificados del T1, T2, T3, T4 y T5

ANEXO 3. CERTIFICADO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Certificado de validación y ejecución del análisis estadístico

Software: R versión 4.3.1

Paquetes: agricolae, tidyverse, ggplot2, factoextra

1. Verificación de supuestos

Prueba	Variable	Estadístico	p-valor	¿Cumple?
Shapiro-Wilk	Nº brotes	W=0.952	0.083	Sí
Shapiro-Wilk	Nº hojas	W=0.941	0.056	Sí
Levene	Nº brotes	F=1.342	0.261	Sí

Conclusión: Los datos cumplen normalidad y homogeneidad de varianzas ($p > 0.05$).

2. ANOVA (resumen)

Fase	Variable	F	gl	p-valor
Multipliación	Nº brotes	37.37	4	5.67×10^{-16} ***
Multipliación	Nº hojas	42.45	4	2×10^{-16} ***
Enraizamiento	Nº raíces	33.29	4	1.53×10^{-15} ***

*** $p < 0.001$

3. Pruebas post-hoc (resultados clave)

Fase	Prueba	Mejor tratamiento	Valor	Grupo
Multipliación	Scott-Knott	T1 (BAP)	7.80 brotes	a
Multipliación	Scott-Knott	T4 (4 g/L)	23.80 hojas	a
Enraizamiento	Tukey HSD	T5 (2 g/L)	8.73 raíces	a

4. Declaración de responsabilidad

Yo, Erickson Urquiaga Flores, certifico que los análisis estadísticos presentados fueron realizados según la metodología establecida, utilizando R v4.3.3, y los resultados son fieles a los datos originales.



Erickson Urquiaga Flores, PhD.
Consultor Ambiental en
Conservación y Teledetección

Anexo 4. Tablas complementarias

Tablas complementarias de correlaciones y análisis multivariado

Tabla C1. Matriz de correlación de Pearson – Fase multiplicación

Variable	Brotes	Hojas	Longitud brotes	Raíces
Brotes	1.00			
Hojas	-0.42	1.00		
Longitud brotes	-0.59	-0.31	1.00	
Raíces	-0.62	-0.30	0.74	1.00

Interpretación: Correlación negativa entre brotes y longitud ($r=-0.59$) confirma el trade-off proliferación vs. elongación.

Tabla C2. Matriz de correlación de Pearson – Fase enraizamiento

Variable	Altura inicial	Altura final	CR	Nº raíces	Longitud raíces
Altura inicial	1.00				
Altura final	0.12	1.00			
CR	-0.09	0.89	1.00		
Nº raíces	0.06	0.41	0.39	1.00	
Longitud raíces	0.10	0.80	0.74	0.23	1.00

Interpretación: Baja correlación entre altura inicial y final ($r=0.12$) indica que el tamaño inicial no predice el desempeño.

Tabla C3. Loadings del PCA – Fase multiplicación

Variable	Dim1 (41.7%)	Dim2 (28.1%)
Número de brotes	-0.523	0.712
Número de hojas	-0.445	0.615
Longitud de brotes	0.762	0.234
Número de raíces	0.891	-0.102

Tabla C4. Loadings del PCA – Fase enraizamiento

Variable	Dim1 (50.3%)	Dim2 (32.8%)
Altura inicial	-0.123	0.945
Altura final	0.942	0.156
Crecimiento relativo	0.881	-0.234
Número de raíces	0.635	0.423
Longitud de raíces	0.798	0.345

Tabla C5. Comparación de costos estimados por tratamiento

Tratamiento	Costo por litro (Soles)	Reducción vs. control hormonal
BAP (2 mg/L)	S/ 0.80	---
IBA (1 mg/L)	S/ 0.05	---
T4 (4 g/L biomasa)	S/ 0.28	65% menor que BAP
T5 (2 g/L biomasa)	S/ 0.14	62% menor que IBA

Nota: Costos calculados con producción interna de biomasa usando medio BIOFERPEZ.