

# UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



## FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

### CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Tema: “Evaluación del biocontrolador *Bacillus subtilis* Cohn en el cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill), en Lita – Imbabura. ”

Trabajo de titulación previa la obtención del  
título de Ingeniería Agropecuaria

AUTOR: Portilla Terraza Karla Lizeth

TUTOR: Msc. Herrera Carlos David

Tulcán, 2022

## CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR

Certificamos que la estudiante Portilla Terraza Karla Lizeth con el número de cedula 1004591572 ha elabora el trabajo de titulación: Evaluación del biocontrolador *Bacillus subtilis* Cohn en el cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill), en Lita – Imbabura.

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de Titulación. Sustentación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizamos la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.



f.....

Herrera Ramírez Carlos David, MSc.

**TUTOR**

Tulcán, septiembre de 2022

## AUTORÍA DE TRABAJO

El presente trabajo de titulación constituye requisito previo para obtención del título de **Ingeniera** en la Carrera de ingeniería en agropecuaria de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales.

Yo, Portilla Terraza Karla Lizeth con cédula de identidad número 1004591572 declaro: que la investigación es absorbente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



f.....

Portilla Terraza Karla Lizeth

**AUTOR**

Tulcán, septiembre de 2022

## ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TIC

Yo, Portilla Terraza Karla Lizeth declaro ser autor de los criterios emitidos en el trabajo de investigación: “Evaluación del biocontrolador *Bacillus subtilis* Cohn en el cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill), en Lita – Imbabura.”, y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.



f.....

Portilla Terraza Karla Lizeth

**AUTOR**

Tulcán, septiembre de 2022

## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo a Dios por haberme dado la vida, quien ha sido mi guía, fortaleza y permitió que pueda llegar hasta este momento tan importante.*

*A mi madre Norma Terraza por el constante apoyo en mis estudios y por todo el sacrificio que hizo para que esta meta se haya podido cumplir.*

*A mis hermanos quienes han sido mi mayor apoyo emocional y mi fortaleza en esta etapa de mi vida.*

*A mi familia por sus consejos y palabras de aliento.*

*Finalmente, a los docentes de la Carrera de Agropecuaria quienes han compartido sus conocimientos para forme como un profesional.*

## **AGRADECIMIENTO**

*El presente trabajo investigativo se lo agradezco a Dios por permitirme mantenerme firme y brindarme sabiduría para cumplir esta difícil meta.*

*Con mucho amor y gratitud a mi madre (Norma Terraza) que siempre ha sido el motor que impulsa mis sueños, esperanzas, por sus consejos, le agradezco a usted amada madre por su apoyo incondicional y ayudarme a lograr mi sueño de ser una profesional.*

*Gracias al MSc. David Herrera, MSc. Paul Santiago Ortiz, MSc. Julio Peña y Phd. Judith García por su dedicación perseverancia y tolerancia a quienes les debo mis conocimientos adquiridos que me ayudaron a formarme profesionalmente.*

*Un sincero agradecimiento a la empresa ENSA Exploraciones Novomining s.a por la oportunidad de mejorar mi desarrollo profesional y haberme ofrecido las herramientas, estrategias necesarias y por brindar su confianza que ha sido de gran valor para culminar esta investigación.*

*Agradezco a mi familia, amigos por su apoyo moral en esta etapa de mi vida.*

## ÍNDICE

I.	PROBLEMA .....	14
1.1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
1.2.	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	15
1.3.	JUSTIFICACIÓN .....	16
1.4.	OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN .....	19
1.4.1.	Objetivo general .....	19
1.4.2.	Objetivos específicos .....	19
1.4.3.	Pregunta de investigación .....	19
II.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA .....	20
2.1.	ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN .....	20
2.2.	MARCO TEÓRICO .....	22
2.2.1.	Origen .....	22
2.2.2.	Clasificación .....	22
2.2.3.	Cultivo .....	23
2.2.4.	Características botánicas .....	24
2.2.5.	Etapas fenológicas del cultivo .....	26
2.2.6.	Requerimientos climáticos .....	27
2.2.7.	Suelos .....	28
2.2.8.	Fertilización .....	28
2.2.9.	Propagación .....	29
2.2.10.	Establecimiento del cultivo y trasplante .....	30
2.2.11.	Variedad Etereí .....	31
2.2.12.	Enfermedades .....	31
2.3.	<i>Bacillus subtilis</i> .....	34
2.3.1.	Clasificación .....	35
2.3.2.	Propiedades antagonistas .....	35
2.3.3.	Lipopéptidos .....	36
III.	METODOLOGÍA .....	38
3.1.	ENFOQUE METODOLÓGICO .....	38
3.1.1.	Enfoque .....	38
3.1.2.	Tipo de Investigación .....	38
3.2.	HIPÓTESIS O IDEA A DEFENDER .....	39
3.3.	DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	39
3.3.1.	Operacionalización de variables .....	39
3.4.	MÉTODOS A UTILIZAR .....	40
3.4.1.	Factores en estudio .....	40
3.4.2.	Tratamientos .....	40
3.4.3.	Diseño experimental .....	40
3.4.4.	Características del experimento .....	41
3.4.5.	Variables .....	43

Primera fase (SEMILLERO).....	43
Segunda fase (CAMPO) .....	44
3.4.6. Análisis de varianza (ADEVA) .....	46
3.4.7. Manejo del experimento .....	47
Primera fase .....	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
4.1 Primera fase.....	51
3.4.8. Segunda fase.....	56
3.5. DISCUSIÓN .....	70
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	74
5.1 Conclusiones .....	74
5.2 Recomendaciones .....	74
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	76
VII. ANEXOS.....	85



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Productividad del tomate en el Ecuador.....	21
<b>Figura 2.</b> Esquema del ensayo en la fase 1.....	42
<b>Figura 3.</b> Esquema del experimento para la fase 2.....	43

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica del tomate.....	23
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica de <i>Bacillus subtilis</i> .....	35
<b>Tabla 3.</b> Operacionalización para el estudio del biocontrolador <i>Bacillus subtilis</i> Cohn en el cultivo de tomate riñón ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill).....	39
<b>Tabla 4.</b> Tratamientos.....	40
<b>Tabla 5.</b> Características del ensayo en la fase 1.....	41
<b>Tabla 6.</b> Características del experimento en la fase 2.....	42
<b>Tabla 7.</b> Escala de severidad.....	46
<b>Tabla 8.</b> ADEVA para la evaluación de semillero.....	47
<b>Tabla 9.</b> ADEVA para un diseño en bloques completos al azar.....	47
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza para germinación.....	51
<b>Tabla 11.</b> Análisis de varianza para desarrollo.....	52
<b>Tabla 12.</b> Prueba de Tukey para crecimiento en la fase de semillero.....	52
<b>Tabla 13.</b> Análisis de varianza para la incidencia de Damping-off.....	53
<b>Tabla 14.</b> Prueba de Tukey para la incidencia de Damping-off.....	53
<b>Tabla 15.</b> Análisis de Varianza para Mortalidad.....	54
<b>Tabla 16.</b> Prueba de Tukey para mortalidad en semillero.....	55
<b>Tabla 17.</b> Análisis de Varianza para los Días al Trasplante.....	55
<b>Tabla 18.</b> Prueba de Tukey para la variable días al trasplante.....	56
<b>Tabla 19.</b> Análisis de varianza para crecimiento.....	56
<b>Tabla 20.</b> Prueba de Tukey para la variable.....	57
<b>Tabla 21.</b> Análisis de varianza para número de flores.....	59
<b>Tabla 22.</b> Prueba de Tukey para la variable número de flores.....	59
<b>Tabla 23.</b> Análisis de varianza número de frutos por planta.....	61
<b>Tabla 24.</b> Prueba de Tukey para la variable número de frutos.....	62
<b>Tabla 25.</b> Análisis de varianza para producción.....	64
<b>Tabla 26.</b> Prueba de Tukey para la variable producción.....	65
<b>Tabla 27.</b> Análisis de varianza para severidad de <i>Phytophthora infestans</i> .....	67
<b>Tabla 28.</b> Prueba de Tukey para la variable severidad <i>Phytophthora infestans</i> .....	68

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Certificado o Acta del Perfil de Investigación .....	85
<b>Anexo 2.</b> Certificado del Abstract por parte de idiomas. ....	86
<b>Anexo 3.</b> Aplicación de Bacillus subtilis en la primera fase de semillero. ....	87
<b>Anexo 4.</b> Aplicación de tratamientos. ....	87
<b>Anexo 5.</b> Ensayo de la primera fase .....	88
<b>Anexo 6.</b> Toma de la variable de crecimiento en la primera fase. ....	88
<b>Anexo 7.</b> Preparación de parcelas para la segunda fase de la investigación. ....	89
<b>Anexo 8.</b> Recolección de datos de la variable altura de planta. ....	89
<b>Anexo 9.</b> Ensayo de la segunda fase. ....	90
<b>Anexo 10.</b> Aplicación del biocontrolador. ....	90
<b>Anexo 11.</b> Tutorio del cultivo. ....	91
<b>Anexo 12.</b> Control biológico con trama de cerveza.....	91
<b>Anexo 13.</b> bacillus subtilis y testigo. ....	92

## Resumen

La utilización del biocontrolador *Bacillus subtilis* fue evaluado para verificar su efectividad en dos enfermedades de mucha importancia para el cultivo de tomate, como lo es *Alternaria ssp* y *Phytophthora infestans*. Para lo cual se utilizaron tres dosis del biológico ( $6 \times 10^7$ ,  $6 \times 10^9$  y  $6 \times 10^{12}$ ) más dos testigos, un convencional y un absoluto. El estudio se lo desarrollo en dos etapas, semillero y en campo, y en cada una de ellas contó con sus propias variables; en la fase de semillero las diferencias estadísticas solo se vieron presentes en una variable, mortalidad en donde el testigo absoluto presento los porcentajes más altos, en tanto que con los tratamientos de *B. subtilis* y el testigo convencional los valores permanecieron en rangos aceptables. En la fase de campo para variables agronómicas de desarrollo las diferencias estadísticas siempre se marcaron en función del testigo absoluto, como es mortalidad al trasplante, crecimiento, número de flores y frutos; incluso en estas dos últimas los valores conseguidos por el *B. subtilis* fue superior que el tratamiento químico. En lo que respecta al rendimiento del cultivo, el testigo convencional obtuvo los resultados más elevados llegando a contabilizar 152 kg/ha superado a los tratamientos con el biocontrolador hasta por un 16%. En lo que respecta a las variables fitopatogénicas no se evidenció la presencia de *Alternaria spp*; en tanto que *Phytophthora infestans* obtuvo una incidencia del 100% en el cultivo, pero la severidad para los tratamientos con *B. subtilis* fue bastante bien atenuada llegando a valores inferiores al 41%. Por tal motivo se puede afirmar que la utilización de *B. subtilis* es una alternativa viable para el manejo de enfermedades foliares como *Phytophthora infestans* que es uno de los oomicetes más complejos de manejar y que en nuestros sistemas productivos es muy persistente y patogénico.

## Abstract

The use of *Bacillus subtilis* Cohn biopesticide was tested to verify its effectiveness in two diseases of great importance for tomato cultivation such as *Alternaria* spp and *Phytophthora infestans*; for this purpose, three biological doses of ( $6 \times 10^7$ ,  $6 \times 10^9$ , and  $6 \times 10^{12}$ ) were used plus two control references, one conventional and one absolute. The study was developed in two stages, in the nursery and in the field, each of them with its own variables. In the nursery phase, statistical differences were only present in one variable, mortality, where the absolute control presented the highest percentages, whilst with the *B. subtilis* and the conventional control, the values remained within acceptable ranges. In the field phase for agronomic variables of development, the statistical differences were always marked based on the absolute control such as transplant mortality, growth, number of flowers and fruits; even in these last two, the values achieved by *B. subtilis* were higher than the chemical treatment. Regarding the crop yield, the conventional control obtained the highest results, reaching 152 kg/ha, surpassing the treatments with the biopesticide by up to 16%. Regarding the phytopathogenic variables, the presence of *Alternaria* spp was not evidenced; while *Phytophthora infestans* obtained an incidence of 100% in the crop, but the severity for the treatments with *B. subtilis* was quite well attenuated reaching values below 41%. For this reason, it can be stated that the use of *B. subtilis* is a viable alternative to the management of foliar diseases such as *Phytophthora infestans*, which is one of the most complex oomycetes to manage and is highly persistent and pathogenic in our production systems.

## INTRODUCCIÓN

Una opción para reducir la contaminación por el uso indiscriminado de agroquímicos sintéticos en el manejo de enfermedades del suelo y foliares es el uso de antagonistas del género *Bacillus*, puesto que son considerados los más eficientes por sus propiedades de inhibición de fitopatógenos, así como presentan efecto en la promoción del crecimiento de las plantas y promueven mayor rendimiento de cultivos. Dada su gran diversidad en el suelo y en la rizósfera, este microorganismo es considerado como un colonizador eficaz. Por tal motivo, el uso de rizobacterias como el *Bacillus subtilis* para el control biológico provee una herramienta sustentable para el control de fitopatógenos, (Abbas et al., 2019).

El tomate de mesa, también conocido como tomate riñón o jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es el cultivo que ocupa el tercer lugar en cuanto a volumen de producción mundial, puesto que es la hortaliza que más se consume en el mundo, sus estándares de consumo están presentes en todas las culturas y sociedades, además se cultiva en invernadero y campo, y, en ciertas épocas del año, alcanza precios elevados en el mercado internacional, pero es atacado por numerosos fitopatógenos (Hernández-Suárez et al., 2010).

Debido a la creciente demanda, el tomate tiene un gran potencial para su comercialización, los países tropicales pueden garantizar permanentemente la producción de muchas especies de la familia Solanaceae, sin embargo, la alta susceptibilidad a patógenos en esta familia afecta de forma significativa los cultivos y puede causar grandes pérdidas en la producción de vegetales y frutos, tanto así que el tomate es una de las hortalizas con mayor problemática fitosanitaria, puesto que las enfermedades constituyen un importante factor que limita su producción, causada por virus, bacterias, nematodos, oomycetes y hongos (Sepúlveda et al., 2012). “Las enfermedades patogénicas están presentes en plántulas (‘Daping-off’), follaje (tizones temprano y tardío), tallos (*Fusarium* spp.) y frutos (pudrición apical y pudrición por *Alternaria*) (Sánchez Soto, 2017).

## I. PROBLEMA

### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los cultivos agrícolas están expuestos a un amplio y diverso conjunto de fitopatógenos (Damalas & Eleftherohorinos, 2011), a nivel mundial, las plagas agrícolas generan pérdidas económicas significativas, por lo que el uso de los plaguicidas se ha convertido en un método de control ampliamente utilizado y asociado con los cultivos de importancia económica (Arana Vallejo, 2016).

Los desafíos para el control de enfermedades están direccionados en disminuir los residuos de pesticidas en plantas y en el suelo, así como la resistencia de los fitopatógenos a los agroquímicos, creando la necesidad de nuevas alternativas con métodos biológicos para el combate de enfermedades (Vinale et al., 2008).

Los fungicidas son ampliamente usados en el desarrollo de los sistemas agrícolas para el control de enfermedades y salvaguardar la productividad y la calidad de los productos, pero a lo largo del tiempo la resistencia de muchos fungicidas ha emergido y diseminando poblaciones de patógenos difíciles de controlar y comprometiendo el control (Lucas et al., 2015).

El rutinario uso de fungicidas en el control de enfermedades de los cultivos ha sido un importante elemento en la intensificación de la agricultura moderna que ha ayudado a aumentar el rendimiento de los cultivos, mejorar la calidad y asegurar la estabilidad de la producción. Los agricultores han tenido acceso a un rango de químicos efectivos que son activos en dosis bajas y que suministraban altos niveles de control (Russell, 2005). Ahora este escenario está cambiando debido al apareamiento de la resistencia de algunas de las más importantes clases de fungicidas en muchos de los patógenos objetivos. Con algunos fitopatógenos hay preocupación con la opción del control químico la cual se está volviendo limitada o inviable (Livermore, 2009).

Adicionalmente, los químicos que constituyen los pesticidas frecuentemente son persistentes y debido al uso irracional de estos insumos durante la etapa de cultivo,

residuos de pesticidas pueden ser encontrados en los productos cosechados, suelos y fuentes de agua (Mateo-Sagasta et al., 2017). Los pesticidas han sido relacionados a numerosos problemas de salud que van desde desordenes del sistema neurológico y endocrino (hormonal), defectos en los recién nacidos y cáncer (Damalas & Koutroubas, 2016). Los efectos en la salud producidos por pesticidas varían de acuerdo al tiempo de exposición, la condición de salud de la persona y la toxicidad química del agrotóxico (Reigart & Roberts, 2013).

En países en desarrollo, persiste ampliamente el uso de ingredientes activos antiguos o que están en desuso, sin patente y ambientalmente persistentes, creando importantes problemas de salud, además de la contaminación ambiental (Zhang et al., 2015). Como resultado de esto, los agricultores se enfrentan a riesgos de exposición a los pesticidas mucho más alto que otro tipo de trabajadores, lo que deriva en una constante exposición y mayor vulnerabilidad.

Por lo mencionado es necesario desarrollar y promover otras alternativas de control para los fitopatógenos que incluya productos que no tengan problemas de residualidad y que no sean una amenaza a la salud pública y guarden mínimo impacto al ecosistema salvaguardando los principales recursos naturales para la producción agropecuaria como son el agua y el suelo.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

La presencia de los fitopatógenos Damping off, *Alternaria ssp* y *Phytophthora infestans* en tomate limita considerablemente la productividad del cultivo lo que deriva en bajos rendimientos, fruta de mala calidad y reducidos ingresos de los agricultores que no alcanzan a cubrir los costos de producción.

### 1.3. JUSTIFICACIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum*. Mill) perteneciente a la familia de las solanáceas y es el cultivo vegetal más popular con gran importancia económica en todo el mundo por su gran valor nutritivo, principalmente por su contenido de vitamina A y C y por su multiplicidad de usos (Giovannucci, 1999). Además, esta es una de las frutas mayormente procesadas y es la segunda más importante después de la papa (Heuvelink, 2018).

El cultivo de tomate es afectado por muchas enfermedades que generalmente derivan en substanciales pérdidas de la producción, se ha comprobado la susceptibilidad a más de 200 patógenos que causan severa destrucción de la planta y consecuentemente la reducción de la cosecha (Mezeal, 2014). El mal de semilleros, también conocido como Damping off se presenta frecuente en las fases iniciales de propagación y en invernaderos, causado entre otros por el fitopatógeno *Rhizoctonia solani* Kuhn (El-Mougy et al., 2007). Además, se encuentran complejos de patógenos integrados por *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Pythium spp.* y *Phytophthora spp.* siendo estos los más frecuentes asociados a esta enfermedad y son considerados los agentes más importantes de este problema (Lamichhane et al., 2017).

En tanto que las enfermedades foliares persistentes en el tomate en cultivo bajo invernadero, entre otras tenemos a *Alternaria spp* y *Phytophthora infestans* las cuales son de importancia en ecosistemas con alta humedad relativa, ambos fitopatógenos son agentes agresivos que sin un manejo adecuado las pérdidas en cosecha son considerables o totales. Estos dos microorganismos nocivos son considerados como recurrentes en todas las solanáceas (Heuvelink, 2018).

Los posibles efectos nocivos de los fungicidas en el ambiente, así como en la salud humana, han incrementado las demandas públicas por la reducción del uso de pesticidas (Ippolito & Nigro, 2000), enfatizando la necesidad de implementar estrategias alternativas de control. Entre estas alternativas se encuentra el uso de agentes de biocontrol microbianos, que han mostrado un significativo potencial (Kefi et al., 2015)



La aplicación de agentes o formulaciones de biocontrol es un importante sustituto para los fungicidas convencionales, con mínimos impactos negativos. Frecuentemente, el biocontrol es utilizado como una estrategia alternativa para el manejo de las enfermedades, especialmente cuando los fungicidas convencionales no son efectivos o causan problemas secundarios como fitotoxicidades (Burns & Benson, 2000).

El sistema radicular de las plantas está cubierto por una fina capa de suelo denominado rizosfera, el cual representa el sitio primario para la absorción de nutrientes, y también es donde ocurren importantes actividades fisiológicas, químicas y biológicas. Las bacterias son los microorganismos más abundantes en la rizosfera, en este sentido las especies de *Bacillus* son capaces de establecer su principal medio de vida en esta zona en donde hay que destacar su capacidad de secretar metabolitos de crecimiento vegetal y que previenen la infección de patógenos (Radhakrishnan et al., 2017).

*Bacillus subtilis* es una bacteria gran-positiva que forma una biopelícula sobre superficies inertes y posee muchos factores transcripcionales (Stanley et al., 2003). Diferentes cepas de *B. subtilis* sintetizan varias enzimas hidrolíticas, como por ejemplo celulasa, proteasa y beta-glucanasa (Hashem et al., 2019), además esta cepa tiene la capacidad de secretar enzimas antibióticas que pueden modificar su entorno para su auto beneficio y también producen endosporas resistentes para sostenerse en condiciones adversas (Cazorla et al., 2007).

Las bacterias tienen la capacidad de producir enzimas que degradan la pared celular y varios metabolitos que pueden detener el crecimiento o la actividad de otros microorganismos (Shoda, 2000). Notablemente, las cepas de *B. subtilis* son conocidas por sintetizar lipopéptidos con características antibióticas, estas incluyen fengicinas, surfactinas e iturrinas (Joshi & McSpadden Gardener, 2006).

Las aplicaciones de *Bacillus* como agente de biocontrol comúnmente se utiliza para proteger los cultivos de las enfermedades, este microorganismo ha mostrado gran

actividad de control para *R. solani*, que causa el Damping off y pudriciones de raíz en plantas cultivadas, específicamente en tomate (Abbas et al., 2019). Los lipopéptidos proveen protección a las plantas, tanto en cultivo como en postcosecha suprimiendo hongos patógenos o induciendo resistencia sistémica en plantas hospederas (Romero et al., 2007). Las cepas de *B. subtilis* PCL1608 y PCL1612 producen altos niveles de antibióticos, especialmente iturrina A, la cual sirve como mecanismo de control para *Fusarium oxysporum* y *Rosellinia necatrix* (Cazorla et al., 2007).

## 1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

### 1.4.1. Objetivo general

Evaluar el biocontrolador *Bacillus subtilis* Cohn en el cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill), para fitopatógenos en condiciones de semillero (Damping off) y de campo (*Alternaria spp* y *Phytophthora infestans*) en Lita – Imbabura.

### 1.4.2. Objetivos específicos

- Establecer la afectación del Damping off bajo el efecto de *Bacillus subtilis* Cohn en propagación de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.) variedad Etereí
- Determinar la incidencia y severidad de *Alternaria spp* y *Phytophthora infestans* para la fase de campo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.) variedad Etereí utilizando *Bacillus subtilis* Cohn
- Comprobar la productividad del cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.) variedad Etereí bajo los tratamientos en estudio.

### 1.4.3. Pregunta de investigación

¿Tendrá un efecto antagónico *Bacillus subtilis* para los agentes patógenos Damping off *Alternaria spp* y *Phytophthora infestans* en el cultivo de tomate riñón?

## II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Las especies de *Bacillus* secretan una amplia variedad de metabolitos secundarios, sobrenadantes libres de células, que han sido probados en contra de varios fitopatógenos en donde destaca *B. cinérea*. Estos compuestos antifúngicos purificados tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de un amplio rango de patógenos, además es bien conocido que *Bacillus* son productores de compuestos biológicamente activos como los lipopéptidos con potente actividad antifúngica (Ye et al., 2012).

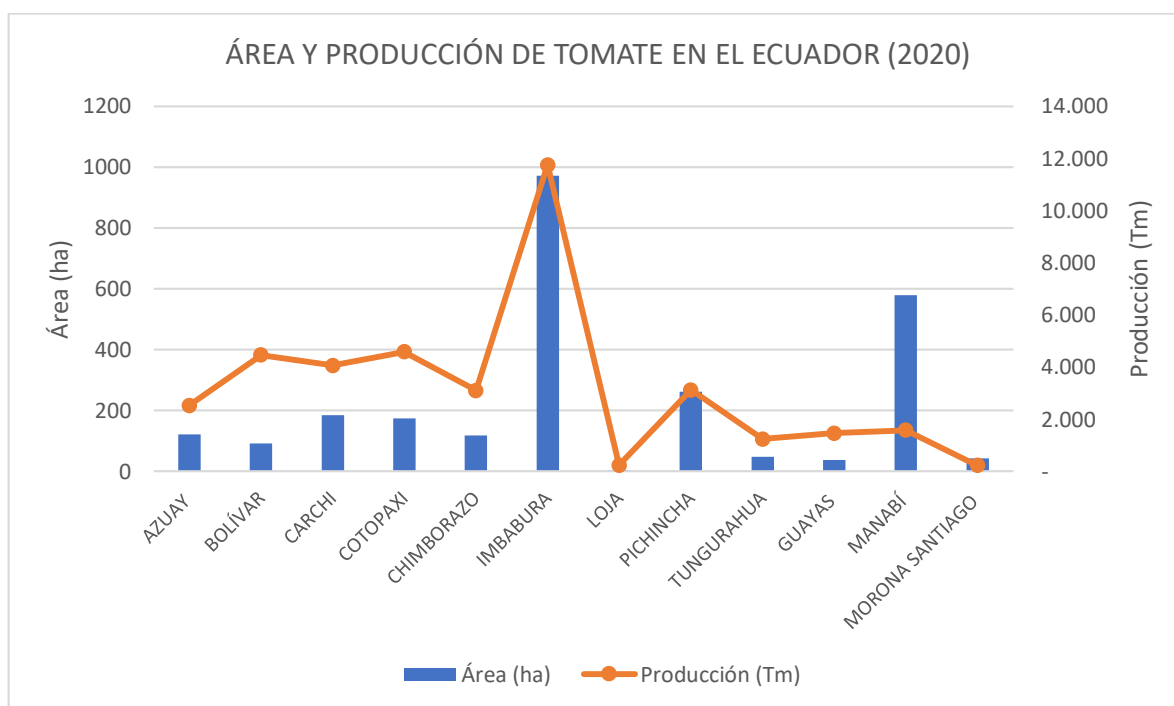
Las bacterias aerobias formadoras de endosporas de la clase Bacilli (*Bacillus* spp. y los géneros relacionados) actúan directamente en el enfrentamiento de organismos fitopatógenos, mediante la producción extracelular de antibióticos, toxinas, enzimas hidrolasas y lipopéptidos antimicrobianos. Los lipopéptidos de origen bacteriano ejercen una amplia acción antifúngica, antibacteriana y antiviral, y además constituyen moléculas efectoras que activan los mecanismos de resistencia inducida en plantas (Obrera, 2014)

Las cepas que muestran una potente actividad antifúngica, pertenecientes a las especies *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens*, deben su actividad microbicida a la capacidad de producir tres tipos de lipopéptidos cíclicos en cantidades elevadas y homogéneas, sintetizados no ribosómicamente, pertenecientes a las familias de las iturinas, surfactinas y fengicinas. Ejemplo de ello es el aislado endofítico *B. subtilis* HC8, que inhibe el crecimiento fúngico y provoca alteraciones morfológicas en hifas procedentes de esporas pretratadas con los metabolitos excretados por la bacteria (Malfanova, 2012)

Se reporta que aislados de *Bacillus* de la rizosfera del tomate, mantiene amplia actividad antifúngica en contra del fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. En este ensayo se utilizaron 49 aislados del biocontrolador de sitios destinados a la producción del tomate y se ejecutó ensayos de confrontación dual a nivel de laboratorio, y experimento en campo para medir el antagonismo hacia el patógeno. Los aislados mostraron aproximadamente hasta un 36% de reducción de la incidencia de la

enfermedad en cultivo de tomate bajo invernadero por lo que se confirma la eficiente capacidad para el control de enfermedades en este cultivo (Jangir et al., 2018).

En el Ecuador se registra 2637 ha (figura 1) destinadas a la producción de tomate riñón, en donde destaca Imbabura y se posiciona como la principal provincia productora de esta hortaliza contando para el año 2020 con 971 ha para cultivo, esta cifra representa el 36,8 % del área total destinada a este cultivo. En tanto que los rendimientos igualmente favorecen a esta provincia, ya que alcanza 11.746 Tm de cosecha de la solanácea y se diferencia hasta por el triple de la segunda provincia en cantidad de producción que es Cotopaxi. Imbabura produce el 30,6 % de la cosecha nacional.



**Figura 1.** Productividad del tomate en el Ecuador.  
Fuente: (INEC, 2021)

## **2.2. MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1. Origen**

El tomate de mesa, también conocido en nuestro medio como tomate riñón (*Lycopersicon sculentum* Mill), es una de las solanáceas con amplia difusión productiva. Su origen se localiza en América del Sur a lo largo de la cordillera de los Andes desde Colombia hasta Chile, pero se manifiesta que su domesticación fue en México, país que actuó como centro de difusión de la especie (Heuvelink, 2018).

### **2.2.2. Clasificación**

El tomate es una planta dicotiledónea, perteneciente a la familia solanaceae y al género *Lycopersicon*. Siendo una de las especies más cultivadas y posee un gran número de especies silvestres relacionadas (Rodríguez et al., 2007).

Actualmente existe una controversia sobre el nombre científico que le corresponde al tomate. Desde el año 1881, Philip Millar lo ubicó en el género *Lycopersicon* y lo denominó *Lycopersicon esculentum*, que ha sido el nombre más ampliamente usado desde entonces. Sin embargo, en 1753 Carlos Linneo, científico, naturalista y botánico – quien sentó las bases de la taxonomía moderna–, ya había colocado el tomate en el género *Solanum* asignándole el nombre científico de *Solanum lycopersicum* L. (Escobar & Lee, 2009). Además, su clasificación taxonómica se resume en la tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica del tomate

<b>Grupo</b>	<b>Denominación</b>
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Solanales
Familia:	Solanáceae
Nombre científico:	<i>Lycopersicum esculentum</i>

### **2.2.3. Cultivo**

El tomate inicia su crecimiento a partir de un tallo principal, formando entre 5 y 10 hojas antes de producir el primer racimo floral. Luego, se presentan dos hábitos de crecimiento de la planta, que son indeterminado y determinado. En plantas de crecimiento indeterminado, se forma en la axila de la hoja más joven (la que está inmediatamente por debajo del racimo floral más reciente) un meristema lateral que crece y desplaza esta hoja a una posición por encima del racimo floral más reciente y sigue su crecimiento formando tres o cuatro hojas y luego un nuevo racimo floral. A partir de ahí el proceso se vuelve repetitivo, pues debajo de la siguiente inflorescencia surge un nuevo meristema lateral con la misma secuencia mencionada. De esta forma, este tipo de plantas pueden crecer indefinidamente alcanzando longitudes mayores a 5 metros. Por esta razón requieren sistemas de soporte o “tutorado” para mantenerse erectas. La producción de frutos se maneja a lo largo de toda la planta y para evitar la proliferación de nuevos tallos, deben podarse continuamente los nuevos brotes axilares (Escobar & Lee, 2009).

En las plantas de crecimiento determinado, hay persistente brotación de yemas axilares y se producen menor número de hojas (una o dos) entre los racimos florales. La

característica principal es que logran un desarrollo máximo de dos metros y con una inflorescencia por cada hoja. La producción se maneja dejando varios tallos que brotan de manera simultánea. Las variedades que con este tipo de crecimiento generalmente se usan para procesamiento o industria porque su pequeña envergadura facilita los procesos de cosecha mecanizada (Escobar & Lee, 2009).

#### **2.2.4. Características botánicas**

- **Tallo**

Inicialmente el tallo tiene una apariencia herbácea; está compuesto de epidermis con pelos glandulares, corteza, cilindro vascular y tejido medular. Con el crecimiento de la planta se va tornando grueso, pubescente, anguloso y de color verde. Mide entre 2 y 4 cm de diámetro y es más delgado en la parte superior. A partir del tallo principal se forman tallos secundarios, nuevas hojas y racimos florales, y en la porción distal se ubica el meristemo apical, de donde surgen nuevos primordios florales y foliares (Escalona et al., 2009).

- **Hojas**

Las hojas son pinnadas y compuestas, estas presentan de siete a nueve foliolos peciolados que miden 4-60 mm x 3-40 mm, lobulados y con borde dentado, alternos, opuestos y, generalmente, de color verde, con superficie glanduloso-pubescente por el haz y ceniciento por el envés. Se encuentran recubiertas de pelos glandulares y ubicados de manera alternada sobre el tallo. La posición de las hojas en el tallo puede ser semierecta, horizontal o inclinada (Escalona et al., 2009).

- **Flor**

Las flores son perfectas y regulares. El cáliz y la corola constan de cinco o más sépalos y de cinco pétalos de color amarillo, que se encuentran dispuestos de forma helicoidal.



Los sépalos, los pétalos y los estambres se insertan en la base del ovario. Poseen cinco o seis estambres que se alternan con los pétalos, formando los órganos reproductivos. El ovario tiene dos o más segmentos (López, 2017).

Las flores forman inflorescencias de tipo racimo, agrupando entre tres y diez para variedades comerciales de tomate medianas y grandes. Estas se ubican en las axilas, cada dos o tres hojas (Jaramillo, 2013). Las flores aparecen en posición lateral y por debajo del primer meristema, siempre colocándose alrededor del eje principal, siendo el pedicelo el que une la flor al eje floral (López, 2017).

- **Fruto y semilla**

Es una baya bilocular o plurilocular, con forma subesférica globosa o alargada, que puede alcanzar un rango de peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 g. El tomate está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas. En estado inmaduro es verde y, cuando madura, se torna rojo intenso (Jaramillo, 2013).

Se han desarrollado variedades con frutos de distintos colores como por ejemplo amarillo, rosado, naranja, morado y verde, entre otros. La baya contiene las semillas, que presentan un tamaño promedio de 5 - 2 mm y presentan forma ovoide, comprimidas, con superficie lisa o muy velluda, de tonalidad parda y están recubiertas en una abundante masa mucilaginosa. (Díaz Pérez & Hernández, 2003).

- **Sistema radicular**

Las raíces tienen la función de anclar la planta con el suelo o el sustrato; tiene la capacidad de absorber y transportar nutrientes y agua a la parte superior de la planta para que sean distribuidos por todos los órganos. Se conforma por una raíz principal y las raíces secundarias y adventicias; estas últimas se presentan en gran número y no superan los 30 cm de profundidad (Jaramillo, 2013). El interior de la raíz presenta tres secciones: epidermis, córtex y cilindro vascular. La epidermis tiene pelos que absorben el agua y los nutrientes, mientras que el córtex y el cilindro vascular cumplen la función de transportar los nutrientes (López, 2017).

## **2.2.5. Etapas fenológicas del cultivo**

- **Crecimiento vegetativo**

Comprende los primeros cuarenta y cinco días desde la siembra de la semilla, la planta ha superado el estrés del trasplante y comienza el desarrollo continuo de todos los órganos, es aquí cuando es necesario la implementación del sistema tutoreo y la implementación del manejo del cultivo utilizando podas y desprendiendo ramas (deschuponado) que no favorezcan una disposición para alta productividad. Esta etapa tiene una duración de cuatro semanas de crecimiento rápido.

- **Floración**

Este periodo inicia entre aproximadamente de veinte a cuarenta días luego del trasplante, en general, el primer racimo floral surge después de la formación de 5 a 10 hojas, cuando la planta tiene una altura mayor a 40 cm. De forma simultánea se combina un crecimiento vegetativo y reproductivo con la aparición de nuevas hojas e inflorescencias, a partir de los cuales se van formando progresivamente los frutos (Haifa Group, 2018).

- **Desarrollo del fruto**

Gracias a la acción del viento y las abejas, entre otros agentes, las flores del tomate son polinizadas, con este proceso comienza el cuaje de la fruta. Una vez fijada inicia su crecimiento, y no suele caerse, además no presenta rastros de la flor. El crecimiento de la fruta y la acumulación de materia seca presentan un ritmo relativamente estable, hasta llegar a dos o tres grados de maduración (Escalona et al., 2009).

- **Maduración fisiológica**

Aproximadamente, la maduración ocurre a los ochenta días después del trasplante, dependiendo de la variedad, la nutrición vegetal y las condiciones agroclimáticas.

Consecuentemente, la cosecha es continúa en los periodos comprendidos entre los 180 a 210 días después del trasplante (Haifa Group, 2018).

### **2.2.6. Requerimientos climáticos**

En condiciones de temperatura más elevada y menor radiación, se deben dejar menos frutos por racimo para mantener las mismas características de calidad. A la vez, a mayor densidad de siembra o menor disponibilidad de radiación por planta, se debe disminuir la cantidad de frutos por racimo para mantener la misma calidad.

La temperatura óptima de desarrollo del cultivo oscila entre 20 °C y 30 °C durante el día y entre 10 °C y 17 °C durante la noche. Temperaturas superiores a los 30 °C reducen la fructificación y la fecundación de los óvulos, afectan el desarrollo de los frutos y disminuyen el crecimiento y la biomasa de la planta. Las plantas de tomate se desarrollan mejor con temperaturas de entre 18 °C y 24 °C (Díaz 2007). Temperaturas diurnas inferiores a 12-15 °C pueden originar problemas en el desarrollo de la planta, mientras que temperaturas diurnas superiores a 30 °C e inferiores a 12 °C afectan la fecundación (López, 2017).

La humedad relativa (HR) óptima, que se ubica entre 60 % y 80 %, favorece el desarrollo normal de la polinización y garantiza una buena producción. El exceso o déficit de HR produce desórdenes fisiológicos y favorece la presencia de enfermedades. Una humedad relativa superior al 80 % favorece la permanencia de enfermedades aéreas, el agrietamiento del fruto y dificulta la fecundación, ya que el polen se humedece y hay aborto floral. Una alta humedad relativa y una baja iluminación reducen la viabilidad del polen y pueden limitar la evapotranspiración, disminuir la absorción del agua y los nutrientes, generar déficit de elementos como el calcio e inducir desórdenes fisiológicos. Una humedad relativa menor al 60 % dificulta la polinización (Infoagro Systems, 2016).

Cuando la luminosidad es reducida, ello puede afectar en forma negativa los procesos de floración, fecundación y desarrollo vegetativo de la planta. Durante los periodos críticos del desarrollo vegetativo de la planta la interrelación entre la temperatura diurna,

nocturna y la luminosidad es fundamental. Por tal motivo se recomienda no cultivar tomate en sitios que permanecen nublados, ya que los rendimientos disminuyen considerablemente (Infoagro Systems, 2016).

### **2.2.7. Suelos**

El tomate se desarrolla en diferentes tipos de suelo, siendo los más indicados los presentan las siguientes características, sueltos, fértiles, bien aireados y con buen drenaje interno, que a su vez tengan capacidad de retener humedad, que sean de texturas francas a franco arcillosas, con altos contenidos de materia orgánica que preferentemente estén por encima del 5% y con una buena presencia de nutrientes. El pH del suelo debe oscilar entre 5,8 a 6,8 para garantizar la máxima disponibilidad de nutrientes. Además, el terreno debe ser uniforme y estar libre de piedras y malas hierbas (Jaramillo, 2013).

### **2.2.8. Fertilización**

Una fertilización eficiente es aquella que proporciona los nutrientes en las cantidades suficientes y en el momento en que el cultivo tiene la mayor demanda. A través de la fertilización se aplica el elemento faltante y se mantiene un equilibrio adecuado entre los elementos del suelo y la planta. Para calcular la cantidad de fertilizante que se debe aplicar es necesario conocer las necesidades del cultivo. El aporte se calcula como la diferencia entre lo que necesitan las plantas y la cantidad que contiene el suelo. En este caso se recomienda hacer un análisis químico del suelo (Rodríguez et al., 2007).

El tomate demanda gran cantidad de nutrientes con alta disponibilidad de macronutrientes como N, P, K, Ca, Mg, S, y micronutrientes como Fe, Mn, Cu, B, Zn. Pero el manejo nutricional debe ser planteado y manejado según la demanda del cultivo y evitar desfaces, como por ejemplo el requerimiento de N es alto, un exceso de este elemento puede llegar a un exagerado desarrollo vegetativo con bajo porcentaje de formación de frutos. Desde el trasplante hasta la floración, la relación de nitrógeno y

potasio debe ser de 1:1; cuando comienza el llenado de fruto se requiere de una cantidad mayor de potasio, ya que este elemento contribuye con la maduración y llenado de frutos, por consiguiente la relación de estos nutrientes debe ser 1:2 o 1:3. La absorción de macronutrientes se eleva a partir de la floración (45 días) y hasta el inicio de la maduración de los frutos (noventa días), donde se acumula la mayor cantidad de nutrientes (Jaramillo, 2013).

Los micronutrientes se aplican al follaje para que sean absorbidos por las hojas. Las fuentes de fertilizantes foliares son sales o quelatos y compuestos orgánicos (Molina, 2016). La nutrición foliar ofrece una nutrición rápida y asegura rendimientos adecuados cuando la absorción de nutrientes del suelo no es óptima, además los fertilizantes foliares es la mejor alternativa para el tratamiento de deficiencias nutricionales. Si hay problemas de deficiencia de calcio o de un microelemento, se suplementa con aplicaciones dirigidas al follaje una vez por semana (Haifa Group, 2018).

En general para macronutrientes, en el cultivo de tomate bajo invernadero se recomiendan las siguientes cantidades (Jaramillo, 2013):

- Nitrógeno 300-600 kg/ha
- Fosforo 400-800 kg/ha
- Potasio 600-1100 kg/ha

### **2.2.9. Propagación**

La producción de plántulas es una de las primeras etapas en la producción de tomate bajo invernadero. En esta sección se incluye las etapas de selección y propagación del material vegetal. Actualmente, las variedades más utilizadas para cultivo bajo cubierta son híbridos de crecimiento indeterminado con alto potencial productivo. Generalmente los frutos son de larga vida en poscosecha y de tamaño, forma y maduración uniformes. Una buena plántula para trasplante debe ser siempre vigorosa, verde, libre de plagas y enfermedades, y con buen desarrollo radicular. Una vez trasplantada, debe tolerar los

cambios ambientales y de manejo para lograr un óptimo desarrollo (Escobar & Lee, 2009).

La producción de plántulas es una actividad especializada que incluye el uso de infraestructura para proteger el valor del material vegetal, sistemas de fertirrigación, uso de contenedores (bandejas de propagación) y sustratos especiales para la siembra de las semillas. Con los nuevos requerimientos de calidad, los semilleros deben aplicar protocolos de buenas prácticas agrícolas (Rodríguez et al., 2007).

#### **2.2.10. Establecimiento del cultivo y trasplante**

El establecimiento del cultivo consiste en el trasplante del material de propagación en el sitio en donde se adelantará su crecimiento y desarrollo. El éxito durante el establecimiento del cultivo depende de varios factores, como la humedad adecuada del suelo o sustrato, el estado nutricional y fitosanitario del mismo, la profundidad de siembra y la calidad del material de propagación, entre otros (López, 2017).

En el sitio definitivo de trasplante se hace un hoyo de aproximadamente 5 cm de profundidad, ligeramente mayor al volumen ocupado por el pilón del recipiente que contiene la planta. El suelo debe tener un adecuado nivel de humedad. Las plantas se van colocando con cuidado, tratando de no estropear el bloque de sustrato. Se recomienda que durante el trasplante una pequeña porción del tallo quede enterrada en el suelo para proporcionar un mejor soporte inicial y permitir a la planta el desarrollo de nuevas raíces, pero teniendo precaución de que las hojas cotiledonales no queden enterradas. Una vez trasplantadas, es necesario regar las plantas lo antes posible para evitar el marchitamiento; en los primeros días después del trasplante, los riegos deben ser cortos pero frecuentes para mantener húmeda la zona donde están desarrollándose las raíces para evitar la mortalidad de las plantas (Jaramillo, 2013).

### 2.2.11. Variedad Etereí

Etereí es un tomate indeterminado tipo milano diseñado para invernadero de ciclo corto, compacto y de fácil manejo (Seminis Andina, 2020). Sus características se resumen a continuación

- Tomate indeterminado tipo milano.
- Diseñado para invernadero
- Planta vigorosa, tallos gruesos, entre nudos muy cortos y excelente cobertura de frutos.
- Frutos uniformes de peso superior a 260 gramos.
- Peso promedio 250-300 gramos
- Madurez relativa (días) 80-100
- Frutos sin hombro verde y muy firmes, que al madurar son de color rojo brillante.
- Muy bajo porcentaje de frutos deformes.
- Alta Resistencia a fusarium raza 1, verticillium raza 1, virus del torrado, virus del mosaico del tomate razas 02, Cenicilla por Fulvia razas A-E y virus de la peste negra.
- Resistencia intermedia a Nemátodos.

### 2.2.12. Enfermedades

- **Damping off**

La enfermedad conocida como Damping-off es una de las razones más recurrentes para la baja productividad del tomate en el mundo, en las regiones de producción de este vegetal existen pestes agrícolas, las cuales incluyen patógenos de suelo como as *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Pythium aphanidermatum* que son factores específicos para el éxito de este cultivo y que son considerados una de las principales causas para enfermar al cultivo en sus estados iniciales y que serían parte del complejo de fitopatógenos que constituyen el Damping-off (Alsudani & Raheem Lateef Al-Awsi, 2020).

Los síntomas de Damping-off pueden ser observados desde la ubicación de la semilla en el suelo o sustrato hasta la sexta semana después de la siembra. Los síntomas de esta enfermedad se dividen en dos fases según el tiempo de aparición, la primera es en preemergencia y puede ocurrir antes de la germinación o cuando la semilla que se encuentra germinando y es atacada por estrés biótico matando los tejidos meristemáticos que están todavía bajo el suelo. En el primer caso, los tejidos de las semillas se vuelven blandos, estos se pudren y no germina. En el segundo caso, los tejidos meristemáticos (radiculares y foliares) que comienzan a crecer son afectados con lesiones húmedas que se forman por debajo de la línea del suelo (Lamichhane et al., 2017).

Con el avance de la enfermedad, las lesiones se oscurecen tomando tonalidades rojizas, marrones o negras. Estos síntomas se extienden rápidamente hacia los tallos tiernos y las hojas jóvenes. Las plántulas pueden marchitarse o morir rápidamente después de la emergencia. En general, se observan espacios vacíos aleatorios que están libres de plántulas en los semilleros, este es un indicativo de Dampng off preemergente (Lamichhane et al., 2017).

- ***Alternaria spp***

Conjuntamente con el tizón tardío, *Alternaria* constituyen las enfermedades de mayor importancia por las pérdidas económicas que ocasionan en todas las zonas productoras de tomate. La presencia de esta enfermedad fungosa se ve favorecida por ambientes húmedos y cálidos. El patógeno se disemina por la lluvia y el viento, y sobrevive en tejidos enfermos y en otras plantas de la familia de las solanáceas (Tamayo & Jaramillo Noreña, 2006).

En campo los primeros síntomas se observan en los bordes de las hojas viejas, las cuales presentan lesiones pequeñas de color café oscuro con bordes irregulares. Estas lesiones crecen rápidamente y se tornan redondas, secas, de color café oscuro o negro, con bordes irregulares, marcados anillos concéntricos y rodeadas de un halo clorótico.



Cuando estas laceraciones son abundantes provocan el amarillamiento generalizado de la hoja. En tallos las lesiones son ovaladas, de color marrón o negro y de aspecto blanquecino o grisáceo en su región central, hendidas y con presencia de anillos concéntricos. Generalmente las lesiones se unen y cubren grandes áreas de ellos (Tamayo & Jaramillo Noreña, 2006).

Los frutos inmaduros o en estado de madurez que son afectados por *A. solani* presentan síntomas mayoritariamente por el cáliz o por el pedúnculo. En ellos se producen lesiones grandes de color café oscuro, hundidas, con aspecto seco y anillos concéntricos. Las áreas perjudicadas presentan consistencia de duras y pueden estar cubiertas con abundante esporulación de color negro o grisáceo en la región central de la misma. El fruto afectado frecuentemente cae y puede ocasionar pérdidas hasta del 50% (Momol & Pernezny, 2006).

- ***Phytophthora infestans***

Este fitopatógeno es recurrente en zonas con temperaturas entre 15 y 22 °C y humedad relativa alta, mayor del 80%. El oomiceto puede sobrevivir en forma de micelio, en otras plantas cultivadas, en arvenses que pertenecen a las solanáceas o en residuos de cosecha que permanecen en el suelo (Rodríguez et al., 2007). Cuando la incidencia de la enfermedad es alta en hojas o tallos, las esporas del hongo son fácilmente diseminadas por el viento, las herramientas o por el salpique del agua de riego.

La enfermedad en cultivo de tomate es cosmopolita y los síntomas se pueden presentar en hojas, tallos o frutos. Generalmente los primeros síntomas aparecen en el follaje, como manchas grandes de color café o castaño, de aspecto húmedo y con una coloración verde pálido alrededor de la lesión. En el envés de la hoja o sobre la superficie de los tallos las lesiones son del mismo color y se observa un leve crecimiento blanquecino en el centro de la lesión, que corresponde a la esporulación del oomiceto (Tamayo & Jaramillo Noreña, 2006).

Durante periodos extendidos de humedad relativa alta, las lesiones en los tallos o ramas crecen cubriendo grandes extensiones de tejido; cultivos severamente afectadas en sus ramas parecen haber sufrido los efectos de una helada. Los tejidos infectados rápidamente se necrosan y causan la muerte de las plantas (Tamayo & Jaramillo Noreña, 2006).

La afectación en los pecíolos causa doblamiento de los mismos, en tanto que en los frutos las lesiones se inician generalmente en la mitad superior, con formas redondas o elípticas en principio y de color café oscuro. El fitopatógeno cubre rápidamente la superficie del fruto, y se vuelve irregular; según las condiciones ambientales, las lesiones pueden cambiar de color castaño a negro y presentar manchas irregulares de tejido acuoso.(Tamayo & Jaramillo Noreña, 2006).

### **2.3. *Bacillus subtilis***

El género *Bacillus* se encuentra ampliamente distribuido en los agro-sistemas y una de sus principales aplicaciones es el control de enfermedades de cultivos agrícolas. La bacteria *Bacillus subtilis* no es potencialmente patógena, no produce endotoxinas y secreta proteínas al medio, algunas de ellas con propiedades antifúngicas, como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas. La subtilina liberada por *B. subtilis* Cohn. actúa sobre la pared celular de hongos (Villarreal-Delgado et al., 2018).

*Bacillus subtilis*. es conocido por ser antagonista de muchos hongos patógenos vegetales. Este antagonismo es logrado a través de diversos mecanismos que incluyen la competencia por nutrientes; exclusión de sitio; colonización de la bacteria en el patógeno o la liberación de componentes celulares durante el crecimiento, en orden de eliminar o reducir los competidores en su medio ambiente inmediato (Villarreal-Delgado et al., 2018).

### 2.3.1. Clasificación

La clasificación taxonómica de *Bacillus subtilis* se describe en la siguiente tabla (Caicedo & Chacón, 2017):

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica de *Bacillus subtilis*

Grupo	Denominación
Reino:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	Bacillaceae
Género:	<i>Bacillus</i>
Especie:	<i>Bacillus subtilis</i>

### 2.3.2. Propiedades antagonistas

La acción biocontroladora de *Bacillus subtilis* está estrechamente relacionada con la producción de metabolitos con propiedades antibióticas capaces de actuar sobre microorganismos de diversa etiología. Los péptidos que produce tienen acción variada y representan un grupo no muy heterogéneo entre sí de metabolitos activos que afectan directamente a algunos fitopatógenos de las plantas. El mecanismo de acción de este biocontrolador se da mediante la secreción de diversas sustancias que se producen cuando la bacteria recibe los nutrientes presentes en la superficie de las raíces de las plantas que induce la elaboración de metabolitos secundarios con capacidad de suprimir el crecimiento de hongos, oomicetos y bacterias fitopatógenas (Pérez & García-Godos, 2019).

De las moléculas producidas por el *Bacillus subtilis*, que han demostrado tener un efecto antifúngico se pueden mencionar: bacilisina, que es un dipéptido que inhibe el crecimiento de levaduras, también la fengimicina, que es un lipopéptido que ha demostrado tener actividad contra los hongos filamentosos y la proteína llamada bacisubina. Se la considera como la principal especie que produce antibiótico llamado subtilina; un péptido que contiene lantionina y que poseen una alta actividad antimicrobiana frente a varias bacterias Gram positivas, debido a sus puentes de sulfuro (Caicedo & Chacón, 2017).

### **2.3.3. Lipopéptidos**

*Bacillus subtilis*, bacteria Gram positiva que produce una gran cantidad de lipopeptidos, metabolitos primarios o secundarios, con amplio espectro antibiótico. Dichos metabolitos son supresores efectivos de algunos patógenos de plantas. Dentro de los compuestos producidos por *Bacillus sp.*, se incluyen la surfactina, fengicina, iturina A, B, y C, micosubtilinas, y bacilomicinas, biosurfactantes activos de membrana con potentes actividades antimicrobianas. La surfactina se identificó por primera vez como un inhibidor de la formación del coagulo de fibrina. Pero de igual forma exhibe funciones antimicrobianas, anti-tumorales y anti-virales, e inhibe la formación de biopelículas de otras bacterias al interferir con la unión de las células a las superficies (Ariza & Sánchez, 2012).

Las surfactinas la familia más estudiada ya que tiene la habilidad de inducir resistencia sistémica en plantas y la propiedad para proliferar células bacterianas, facilitando así la colonización de la rizósfera. La familia de las iturinas representada por la iturrina A, micosubtilinas y baciliomicinas, muestran una fuerte actividad antifungosa. La iturrina A purificada suprime el crecimiento de varios tipos de hongos incluyendo *Rhizoctonia solani* en ensayos con placas. Aunque las surfactinas tienen una actividad antibiótica relativamente débil, la actividad antibiótica de la iturrina A es muy fuerte (Sánchez Pila, 2016).

Las fengicinas son biosurfactantes que muestran una fuerte actividad fungitóxica, específicamente de hongos filamentosos y es inhibidor del crecimiento de una amplia gama de patógenos de plantas. Impide principalmente el crecimiento de hongos filamentosos. Como la mayoría de péptidos naturales antimicrobianos, las fengicinas probablemente actúan haciendo la membrana plasmática de la célula objetivo más permeable (Sánchez Pila, 2016).

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

##### 3.1.1. Enfoque

El enfoque con el cual se desarrolló la presente investigación fue de carácter cuantitativo, puesto que se implementó dos fases investigativas, mismas que incluyen el desarrollo de un ensayo en cada etapa. En este sentido se generará un conjunto de datos de los factores en estudio considerados, que permitió ver el efecto que tiene *Bacillus subtilis* tanto en la fase de semillero, como en la fase de campo con respecto a la afectación de los fitopatógenos del cultivo de tomate.

##### 3.1.2. Tipo de Investigación

Como se indicó anteriormente, el desarrollo del presente trabajo investigativo incluye dos fases que son estrictamente experimentales; al inicio se utilizará un sustrato comercial para realizar la siembra del tomate en bandejas de germinación, aplicando frecuentemente los tratamientos en estudio.

En la segunda fase se desarrolló en campo, es decir en el crecimiento y producción del cultivo, para lo cual se implementará una pacerla experimental en donde se ubicó de manera sistemática las correspondientes unidades en donde se aplicarán los tratamientos, en donde se podrá verificar si la utilización de *Bacillus subtilis* genera diferencias entre las variables contempladas en el ensayo.

### 3.2. HIPÓTESIS O IDEA A DEFENDER

Ho: El uso de *Bacillus subtilis* en el cultivo de tomate no controla Damping off, *Alternaria ssp*, y *Phytophthora infestans*.

Ha: Al menos una dosis de *Bacillus subtilis* controla Damping off, *Alternaria ssp*, y *Phytophthora infestans* en el cultivo de tomate.

### 3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

#### 3.3.1. Operacionalización de variables

La operacionalización de las variables se encuentra detallados en la tabla 3.

**Tabla 3.** Operacionalización para el estudio del biocontrolador *Bacillus subtilis* Cohn en el cultivo de tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill)

Variable	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
<b>Independiente:</b> Afectación del Damping off, <i>Alternaria spp</i> y <i>Phytophthora infestans</i> en producción de tomate riñón	Incidencia Damping off	Porcentaje de incidencia	Programa de monitoreo de enfermedades en tomate	Observación, tablas de relación de incidencia y severidad
	Incidencia <i>Alternaria spp</i>	Porcentaje de incidencia		
	Incidencia <i>Phytophthora infestans</i>	Porcentaje de incidencia		
	Severidad <i>Alternaria spp</i>	Porcentaje de severidad		
	Severidad <i>Phytophthora infestans</i>	Porcentaje de severidad		
<b>Dependiente:</b> Evaluación de tres dosis <i>Bacillus subtilis</i> Cohn	Mortalidad	Porcentaje	Programa de monitoreo de enfermedades en tomate	Observación, tablas de relación de incidencia y severidad
	Producción	Crecimiento	Desarrollo	Flexómetro
		Rendimiento	Cosecha	Recolección
		Calidad	Calibre	Tablas de calibres

### 3.4. MÉTODOS A UTILIZAR

En el desarrollo del presente estudio se emplearán dos etapas, la primera corresponderá a la fase de propagación, en tanto que la segunda se implementará en el desarrollo del cultivo cuando sea trasplantado al invernadero.

#### 3.4.1. Factores en estudio

En las dos fases el factor en estudio será el mismo y consiste en las dosis de *Bacillus subtilis* que estarán representadas por el conteo bacteriano que se realice del biocontrolador y se los enlista a continuación:

- D1:  $6 \times 10^7 = 3 \text{ ml} / 1 \text{ lt H}_2\text{O}$
- D2:  $6 \times 10^9 = 6 \text{ ml} / 1 \text{ lt H}_2\text{O}$
- D3:  $6 \times 10^{12} = 9 \text{ ml} / 1 \text{ lt H}_2\text{O}$

#### 3.4.2. Tratamientos

La presente investigación contará con cinco tratamientos, mismo que se emplearán en las dos fases investigativas y que se detallan en la tabla 2:

**Tabla 4.** Tratamientos

N°	Detalle	Tratamiento
1	Dosis 1	D1
2	Dosis 2	D2
3	Dosis 3	D3
4	Testigo convencional	TC
5	Testigo absoluto	TA

#### 3.4.3. Diseño experimental

Como esta investigación comprende dos etapas se utilizó diseño experimental en cada una de ellas según la siguiente distribución:



- Primera fase: diseño completo al azar (DCA),
- Segunda fase: diseño en bloques completamente al azar (DBCA)

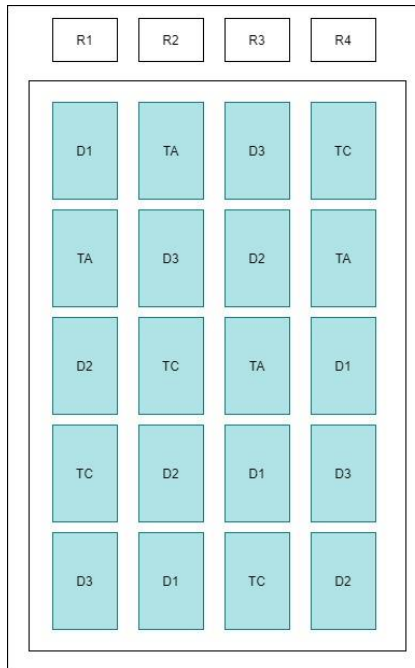
#### 3.4.4. Características del experimento

En la fase 1 de la investigación se utilizaron bandejas de propagación de 32 alveolos, en donde cada bandeja constituyo una unidad experimental. Las características del experimento están detalladas en la tabla 3:

**Tabla 5.** Características del ensayo en la fase 1

Descripción	Unidad
<b>Tratamientos</b>	5
<b>Bloques</b>	4
<b>Unidades experimentales</b>	20
<b>Alveolos por UE</b>	32
<b>Volumen del alveolo</b>	51 cc
<b>Semillas por unidad experimental</b>	32
<b>Semilla por alveolo</b>	1

Las características del ensayo en la fase 1 se detallan en la figura 2



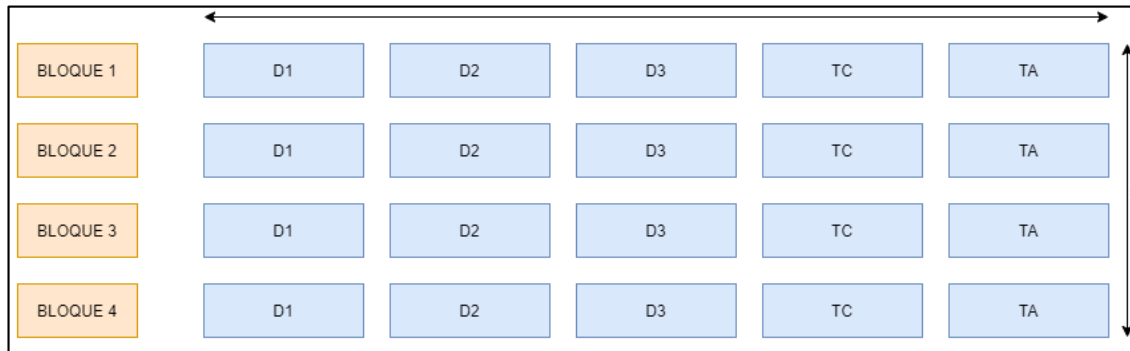
**Figura 2.** Esquema del ensayo en la fase 1

En la fase 2 del estudio, el experimento tuvo lugar en el sitio definitivo de trasplante bajo invernadero, cada unidad experimental está compuesta por 10 plantas, las características se detallan en la tabla 4.

**Tabla 6.** Características del experimento en la fase 2

Descripción	Unidad
Bloques:	4
Tratamientos:	5
Unidades experimentales:	20
Largo de la parcela experimental:	5 m
Ancho de la parcela experimental:	1 m
Área total del ensayo:	500 m <sup>2</sup>
Área por unidad experimental	5 m <sup>2</sup>
Número de plantas por parcela neta:	10
Distancia entre plantas:	0.50 cm
Distancia entre surcos:	1 m

El esquema del experimento en la fase dos se detalla en la figura 3



**Figura 3.** Esquema del experimento para la fase 2.

### 3.4.5. Variables

#### Primera fase (SEMILLERO)

- *Germinación*

Es esta variable se valoraron dos datos, primero el porcentaje de germinación que está determinada por la relación entre la semilla sembrada y la germinada; segundo, la velocidad de germinación que consistió en medir los días que emplean cada tratamiento para emerger del sustrato y expulsar la testa.

- *Desarrollo (crecimiento)*

Para cumplir con esta variable, una vez por semana se midió el crecimiento de la plántula utilizando una regla graduada en centímetros. La medición fue desde la base de la planta hasta el meristema apical. Por cada unidad experimental se utilizaron 10 plantas tomadas al azar.

- *Incidencia de Damping off*

Para el cálculo de esta variable se consideró los niveles de marchitamiento y posterior muerte de las plántulas, para lo cual se realizó por medio de un porcentaje, para lo cual

se clasificó a las plantas sanas (sin algún síntoma) de las plantas enfermas (con síntomas de la enfermedad).

- *Mortalidad*

En esta variable se procedió a realizar la diferencia entre el número de plántulas germinadas y las plantas que alcanzaron el estado fisiológico para el trasplante, expresado en porcentaje.

- *Días al trasplante*

Para valorar esta variable se contaron los días que transcurrieron desde el momento de la siembra, cuando se ubicó la semilla en el sustrato hasta el momento en que la plántula estuvo lista para migrar al sitio definitivo de siembra que fue el invernadero.

## **Segunda fase (CAMPO)**

- *Crecimiento*

Esta variable tiene el fin de medir la velocidad de crecimiento, y consistió en medir cada 10 días la altura de la planta utilizando un flexómetro y expresados en centímetros. El punto de inicio para la medición será la base del tallo hasta el meristema apical.

- *Número de flores por planta*

En función de cumplir con esta variable, se contabilizaron el número de flores que se generaron en cinco plantas de cada unidad experimental tomadas al azar, la frecuencia de las lecturas fue cada 10 días desde que aparecieron las primeras inflorescencias.

- *Número de frutos por planta*

Esta variable tiene la función de relacionar las flores que se generan en el cultivo frente a los frutos que llegan a cuajar y cosecharse. Por lo tanto, se contabilizará el cuaje de frutos (ovario fecundado) como lectura inicial y fruto cosechado.

- *Producción*

En esta variable se procedió a pesar los frutos cosechados en punto de madurez fisiológica, para lo cual se utilizará una balanza, en primera instancia se interpretó en kilogramos por parcela neta, para luego se extrapoló a kg/ha.

- *Incidencia Alternaria spp y Phytophthora infestans*

La incidencia es el número de plantas con síntomas de las enfermedades estudiadas, sobre el total de plantas evaluadas (porcentaje). Semanalmente se realizó el monitoreo, mediante la cual se tomó 10 plantas al azar de la parcela neta.

Para obtener el porcentaje de incidencia de los fitopatógenos en el cultivo de tomate se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de Incidencia} = \frac{\text{plantas afectadas por la enfermedad}}{\text{plantas muestreadas}} \times 100$$

- *Severidad Alternaria spp y Phytophthora infestans*

La severidad es el porcentaje de tejido visiblemente dañado o afectado de una planta con relación al total evaluado, en el presente estudio se evaluó esta variable según el detalle de la tabla 5.

**Tabla 7.** Escala de severidad

GRADO	%	SEVERIDAD
1	20	Las plantas no muestran síntomas de daño
3	40	Daño leve. Se observan síntomas característicos de los dos fitopatógenos distribuidos en una sección específica de la planta
5	60	Daño moderado. Los síntomas aparecen en hojas nuevas y viejas de las plantas.
7	80	Daño severo. Hay mayor presencia de tejido necrosado, atrofiamiento marcado de la planta o enanismo y amarillamiento.
9	100	Atrofiamiento y marchitez severa de la planta, falta de producción y, con frecuencia, muerte de las plantas.

(Villarreal-Delgado et al., 2018)

Para obtener el grado porcentual de la severidad se utilizó la siguiente ecuación:

$$S(\%) = \frac{\Sigma i \times 100}{N (VM)}$$

Dónde:

S= Porcentaje de severidad (daño plaga)

$\Sigma$ = Sumatoria de valores observados

N= Número de plantas muestreadas

#### **3.4.6. Análisis de varianza (ADEVA)**

El presente estudio estará dividido en dos etapas, la fase de propagación, la cual se llevó a cabo exclusivamente en semillero y fue evaluado desde la siembra de la semilla hasta cuando las plántulas estuvieron listas para el trasplante; el ADEVA para esta fase se detalla en la tabla 6.

**Tabla 8.** ADEVA para la evaluación de semillero

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>
Repetición	$(R - 1)$
Dosis	$(d-1)$
Dosis x repetición	$(d-1)(R-1)$
Error experimental	$(R-1)(d-1)$
Total	

En la segunda etapas se utilizó un diseño en bloques completos al azar para valorar la efectividad del biocontrolador *Bacillus subtilis*, frente al manejo convencional y a un testigo absoluto, para lo cual el ADEVA se detalla en la tabla 7.

**Tabla 9.** ADEVA para un diseño en bloques completos al azar

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>
Bloque	$(R - 1)$
Dosis	$(d-1)$
Dosis x Bloque	$(d-1)(R-1)$
Error experimental	$(R-1)(m-1)(d-1)$
Total	

### 3.4.7. Manejo del experimento

#### Primera fase

- **Sitio del ensayo**

El sitio seleccionado para la primera fase del estudio estuvo acondicionado con la infraestructura adecuada para albergar las bandejas plásticas en donde exista la posibilidad de recibir luz tenue en el día, para lo cual se utilizó un sarán de calibre idóneo para regular la intensidad luminosa y la temperatura.

- **Siembra**

Como sustrato para esta fase de la investigación fue una turba comercial con características idóneas para la germinación y crecimiento de semillas de tomate, además

se tuvo cuidado de llenar todos los alveolos de las bandejas de manera uniforme. Con respecto del material genético este se adquirió cerciorándose que se encuentre vigente, que se lo obtuvo correctamente empacado y presentó características cualitativas de ser semilla de la mejor calidad.

- ***Aplicación de los tratamientos***

Los tratamientos en base a *Bacillus subtilis* fueron aplicados cada tres días con las dosis planteadas, en tanto que el testigo convencional del estudio recibió controles químicos según la determinación del monitoreo, mientras que el testigo absoluto no recibió aplicación de ningún insumo.

## **Segunda fase**

- ***Preparación del suelo***

En el lote seleccionado para la experimentación, se realizó los respectivos trabajos manuales con el fin de aflojar y nivelar el suelo para facilitar la conformación de camas de siembra. Esta actividad se efectuó 15 días antes de la siembra y además se incorporará materia orgánica según lo determinó el análisis de suelos.

- ***Delimitación de parcelas***

Una vez preparado el suelo se procedió a la delimitación de 15 unidades experimentales cuyas dimensiones fueron de 3m x 1m cada una, para la delimitación de unidades experimentales se utilizó un flexómetro, estacas y piola. En cada unidad experimental se implementaron las camas de siembra para el cultivo.



- **Trasplante**

Esta actividad se realizó a los 15 días después de la preparación del terreno. Para la siembra se utilizó la densidad de siembra de 1 m entre surcos y 0,30 m entre plantas, para lo cual se señaló con una estaca y procedió a realizar un agujero del calibre del pilón de la plántula que facilitó el trasplante. Antes de realizar esta actividad el suelo se lo regó para que esté en capacidad de campo, para que de esta manera se logre reducir los niveles de estrés del cultivo.

- **Riego**

Los riegos se realizarán por medio de un sistema por goteo; en el momento del trasplante, esta actividad se la desarrollara dos veces al día, muy temprano en la mañana y en la tarde cuando la luz estuvo tenue. Después de este periodo dependerá de las condiciones climáticas y sobre todo del estado fenológico de la planta tomando en cuenta que el suelo siempre permanezca en capacidad de campo para que siempre exista disponibilidad de agua para el cultivo.

- **Deshierba**

Esta actividad manual fue constante durante todo el ciclo del cultivo, pues se evitó la presencia de plantas hospederas de plagas y competidoras.

- **Fertilización**

Para el cálculo de los fertilizantes se procedió a realizar un análisis de suelo del sitio del experimento, para los tratamientos que incluye *Bacillus* se utilizó fertilización orgánica, los complementos que no se lograron mediante esta alternativa se complementó con fertilizantes sintéticos, en tanto que los testigos recibieron fertilización convencional.

- **Podas**

Cuando el cultivo alcanzó los 15 cm de altura se procedió a agobiar las plantas, que consistió en virar el tallo a los 5 cm, con el objetivo de generar un segundo tallo principal, esto para manejar dos guías principales. Para fomentar un rápido crecimiento se podó las ramas laterales próximas al ápice, acción que es conocida como deschuponar. Además, se realizaron podas de mantenimiento cortando ramas fructíferas que ya fueron cosechadas.

- **Tutoreo**

Como se mencionó en el punto anterior el manejo del cultivo fue con una guía principales las cuales tuvieron que ser sujetadas por un sistema de tutoreo, que con consiste en utilizar cintas de poliéster sujetadas en la base del tallo de la planta y mientras esta crece se conducirá a través de las cuerdas guías que tendrán que tener una tensión perpendicular al suelo para procurar un crecimiento erguido de la planta.

- **Aplicación de los tratamientos**

Los tratamientos a base de *Bacillus subtilis* fueron aplicados con dos procedimientos, estos son, en drech y foliar. En las primeras fases del desarrollo del cultivo cuando este estuvo con una altura menor a 25 cm, se utilizó el primer procedimiento y cuando el cultivo superó los 25 cm se empleó los dos métodos de aplicación; la frecuencia fue semanal. Mientras que el testigo absoluto recibió manejo integrado utilizando agroquímicos y el testigo absoluto no recibió manejo de enfermedades.

- **Cosecha**

Los frutos fueron cosechados cuando alcanzaron madures fisiológica, es decir su corteza tomó el color rojo brillante característico de la especie, para lo cual se extrajo la fruta de la planta incluyendo el pedúnculo.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Primera fase

- **Germinación**

Los resultados del análisis de varianza para germinación se detallan en la tabla 10, en donde se determina que no existe diferencias estadísticas tanto para las repeticiones ( $P=0,5368$ ) y los tratamientos ( $P=0,7854$ ), lo que determina que las dosis de *Bacillus s.* no tienen injerencia en la germinación de las semillas de tomate.

**Tabla 10.** Análisis de varianza para germinación.

FUENTE	Grados de libertad	Suma	Media	F	P
Repetición	3	4	1,33333	0,76	0,5368
Tratamiento	4	3	0,75	0,43	0,7854
Error	12	21	1,75		
Total	19	28			
C.V. (%)	4,56				

Los parámetros de germinación variaron muy poco y se completó el proceso de esta variable entre los días 9,48 y 9,92 después de la siembra. Estos resultados destacan que entre los testigos utilizados en el experimento y comparados con los tratamientos del microorganismo utilizado no hay diferencia

- **Desarrollo (crecimiento)**

Los resultados para el desarrollo de las plantas se observan en la tabla 11, en donde se destaca que no existe interacción entre las repeticiones con los tratamientos ( $P=0,14$ ), en tanto, que se evidencia que existe diferencias estadísticas para los tratamientos ( $P=0,000$ ) y las lecturas ( $P=0,000$ ) de forma independiente, mientras que para las repeticiones no se presentan diferencias ( $P=0,1437$ ).

**Tabla 11.** Análisis de varianza para desarrollo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>7 dds</b> p-valor	<b>14 dds</b> p-valor	<b>21 dds</b> p-valor
Repetición	3			
Tratamiento	4	0,7011	<0,0001	<0,0001
Error	192			
Total	199			
Media		2,06	4,70	6,95
CV (%)		10,23	12,79	12,04

En la tabla 11 se presentan el resultado de la comparación de medias de las tres valoraciones realizadas en esta variable, en donde se destaca que dos de ellas presentan diferencias estadísticas.

**Tabla 12.** Prueba de Tukey para crecimiento en la fase de semillero

<b>7 dds</b>		<b>14 dds</b>		<b>21 dds</b>	
Trat	Medias	Trat	Medias	Trat	Medias
TC	1,97 A	TA	4,27 B	TC	5,92 C
TA	1,98 A	TC	4,56 A B	TA	6,63 B
D1	2,04 A	D3	4,89 A	D2	7,29 A
D3	2,15 A	D1	4,9 A	D1	7,39 A
D2	2,17 A	D2	4,91 A	D3	7,52 A

En la tabla 12, se observa la dinámica de crecimiento de las plántulas de tomate, a los 7 dds periodo en donde no se presentan diferencias estadísticas. El rango de desarrollo va desde los 1,97 cm en la primera lectura hasta los 2,17 cm.

Crecimiento de plántulas a los 7 dds, se puede evidenciar que lo tratamiento que recibieron las dosis del B. subtilis presentan diferencias estadísticas con respecto de los testigos utilizados en esta investigación. Todos con el microorganismo presentan un mismo rango que va desde los 4,77 cm a 4,89 cm, mientras que los testigos presentan los desarrollos más bajos y van desde 4,14 cm hasta los 4,29 cm.

Crecimiento de plántulas a los 14 dds, se observa el desarrollo de las plántulas para el tercer periodo de evaluación de esta fase, en donde los tratamientos utilizados no presentan diferencias estadísticas y son los registros más elevados, en tanto que los dos testigos presentan diferencias estadísticas entre sí.

- ***Incidencia de Damping off***

Los resultados del análisis de varianza para la incidencia del Damping off, en la etapa de semillero del cultivo de tomate se presenta en la tabla 12, en donde se destaca que en la primera evaluación que corresponde a los 10 dds no se presentan diferencias estadísticas en tanto que en la segunda valoración se evidencia diferencias estadísticas para los tratamientos ( $p < 0,0001$ ).

**Tabla 13.** Análisis de varianza para la incidencia de Damping-off

FV	GL	10	20
		dds	dds
		p-valor	p-valor
Repetición	4		
Tratamiento	3	0,3140	<0,0001
Error	12		
Total	19		
Media		3,17	4,50
C.V. (%)		11,61	14,18

En la tabla 14 se observa los resultados de la prueba de Tukey en donde se comprueba que la incidencia de Damping off tuvo mayor repercusión en la fase de semillero después de los 20 dds, puesto que se presentan diferencias estadísticas.

**Tabla 14.** Prueba de Tukey para la incidencia de Damping-off

10 dds		20 dds	
Trat	Medias	Trat	Medias
TC	0,83 A	D3	0 B
D1	2,5 A	D2	0 B
TA	4,17 A	D1	0 B
D3	4,17 A	TC	9,17 A
D2	4,17 A	TA	13,33A

En la tabla 14. Se observa la dinámica de la incidencia de Damping off a los 10 dds en donde no existen diferencias entre los tratamientos implementados y los testigos utilizados en el estudio.

*Incidencia de Damping off 20 dds*, se observa la respuesta del tomate en semillero para el Damping off, en donde es importante resaltar que los tratamientos con *B. subtilis* presentan los porcentajes más bajos y sin presencia de diferencias estadísticas entre ellos, mientras que los dos testigos presentan un mismo rango con valores más elevados.

- **Mortalidad**

Los resultados del análisis de varianza para la mortalidad se visibilizan en la tabla 15, en donde se evidencia que existe diferencias estadísticas con respecto de los tratamientos ( $P= 0,0044$ ), con estas cifras se puede inferir que las aplicaciones de *B. subtilis* tiene relación en los porcentajes de mortalidad.

**Tabla 15.** Análisis de Varianza para Mortalidad

<b>F.V.</b>	<b>GI</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	7	527,35	75,34	4,17	0,0149
Repetición	3	41,67	13,89	0,77	0,533
Tratamiento	4	485,67	121,42	6,72	0,0044
Error	12	216,68	18,06		
Total	19	744,02			
Media	8,16				
CV	12,03				

En la tabla 16, se presentan los resultados de la prueba de Tukey para mortalidad en semillero, en donde es importante señalar que los porcentajes más bajos corresponden a los tratamientos del biocontrolador, en tanto que los testigos se diferencian estadísticamente con porcentajes mucho más elevados.

**Tabla 16.** Prueba de Tukey para mortalidad en semillero

Trat	Medias	
D3	4,17	B
D2	4,17	B
D1	5	B
TC	10,84	AB
TA	16,67	A

En la tabla 16 el porcentaje de mortalidad, se muestran los porcentajes de mortalidad obtenidos por los tratamientos y los testigos del presente estudio, en donde se muestra claramente la diferencia estadística entre estos dos grupos, los valores obtenidos en las repeticiones con *B. subtilis* mantienen porcentajes inferiores al 5% en tanto que los testigos van desde el 10,8% al 16,67 % que corresponde al control absoluto.

- **Días al trasplante**

Los resultados para la variable días al trasplante se muestran en la figura 17, en donde hay que resaltar que los tratamientos evidencian diferencias estadísticas ( $P= 0,0001$ ), lo que determina que *B. subtilis* presenta incidencia en el periodo de semillero en el cultivo de tomate.

**Tabla 17.** Análisis de Varianza para los Días al Trasplante.

F.V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Modelo	7	205,05	29,29	9,9	0,0004
Repetición	3	5,75	1,92	0,65	0,5992
Tratamiento	4	199,3	49,83	16,84	0,0001
Error	12	35,5	2,96		
Total	19	240,55			
Media	27,65				
CV	6,22				

En la tabla 18, se detallan los resultados de la prueba de Tukey para la variable días al trasplante, los tratamientos en donde se empleó el biocontrolador presentan menor cantidad de días y no se diferencian entre sí, lo contrario sucede con los testigos quienes promedian entre 31 días siendo el periodo más tardío.

**Tabla 18.** Prueba de Tukey para la variable días al trasplante

Trat	Medias	
D1	24,75	B
D3	25	B
D2	25,5	B
TA	31,25	A
TC	31,75	A

En la tabla, se muestra los resultados obtenidos en esta investigación con los días para el trasplante en donde se destaca que los tratamientos con *B. subtilis* presentan los periodos más cortos de trasplante, en tanto los testigos obtienen tiempos más demorados en semillero. Para los tratamientos experimentados están en rangos hasta los 25 días, en tanto que los testigos han alcanzado sobre los 31 días.

#### 4.2 Segunda fase

- **Crecimiento**

En la tabla 19, se muestran los resultados del análisis de varianza para la variable crecimiento, en donde se destaca que existe diferencias estadísticas para los tratamientos implementados ( $P= 0,000$ ) y lecturas ( $P= 0,000$ ), esto se podría ser influencia directa de los tratamientos utilizados.

**Tabla 19.** Análisis de varianza para crecimiento

FV	GL	10	20	30	40	50	60	70 dds	80
		dds	dds	dds	dds	dds	dds	dds	dds
		p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Bloque	4								
Tratamiento	4	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0005	0,002
Error	241								
Total	249								
Media		20,045	44,37	84,92	108,51	128,74	153,06	163,92	168,78
CV		12,85	10,61	7,58	6,04	5,92	5,44	17,28	19,43

En la tabla 20, se puede observar los resultados para la prueba de Tukey para la variable crecimiento, en donde se ejecutaron ocho lecturas, de las cuales todas presentan diferencias estadísticas, en donde hasta los 40 dds el crecimiento no muestra un patrón



definido, pero después de este periodo el testigo convencional y la dosis 3 y 2 fueron las que más crecieron.

**Tabla 20.** Prueba de Tukey para la variable

10 dds			20 dds			30 dds			40 dds		
Trat.	Media	GH	Trat.	Media	GH	Trat.	Media	GH	Trat.	Media	GH
D1	18,45	B	D1	41,9	C	TA	81,3	B	TA	103,92	C
D2	19,025	B	D2	43	BC	D1	83,4	B	D1	107,23	BC
TA	20,825	A	TA	44,8	AB	D2	83,825	B	D2	108,13	AB
D3	20,95	A	TC	45,25	AB	D3	87,975	A	TC	111,25	A
TC	20,975	A	D3	46,9	A	TC	88,1	A	D3	112	A
50 dds			60 dds			70 dds			80 dds		
Trat.	Media	GH	Trat.	Media	GH	Trat.	Media	GH	Trat.	Media	GH
TA	123,7	C	TA	149,5	B	TA	137,13	C	TA	135,95	C
D1	126,25	BC	D1	150,3	B	D1	155,73	BC	D1	164,37	BC
D2	128,8	AB	D2	151	B	TC	175,02	A	TC	173,9	BC
TC	132,22	A	TC	157	A	D2	175,42	A	D2	180,87	A
D3	132,7	A	D3	157,47	A	D3	176,3	A	D3	188,77	A

Es necesario indicar que las diferencias estadísticas en las lecturas están marcadas por el desarrollo fenológico de las plantas, por lo que el resultado es lógico. Mientras que en los tratamientos se puede inferir que existe influencia del *B. subtilis* en el desarrollo para el crecimiento del cultivo. En las ocho lecturas tomadas en el experimento la máxima altura es de 169,5 cm.

Crecimiento del cultivo del cultivo de tomate a los 10 dds, se representa la dinámica de crecimiento a los 10 dds, en donde los dos testigos y en la dosis 3 conforman un grupo entre sí, con longitudes que están próximas a los 21 cm, en tanto que las dosis 1 y 4 presentan el menor desarrollo llegando a los 19 cm.

Crecimiento del cultivo del cultivo de tomate a los 20 dds, se representan gráficamente el desarrollo del cultivo a los 20 dds, en donde la dosis 3, presentan mejor desempeño, mientras que los testigos conforman un solo grupo entre ellos. Además, la dosis se recupera y no se diferencia estadísticamente de los testigos, la menor elongación esta para la dosis 1.

Se observa el crecimiento para para los 30 dds, en esta fase de la investigación el testigo convencional y la dosis 3 presentan las longitudes más elevadas, sobre los 88 cm, mientras que el testigo convencional ha perdido la hegemonía y es el peor en crecimiento en tanto que la dosis 1 y 2 también presentan poco desarrollo.

A los 40 dds, el panorama es similar para la dosis 3 y el testigo convencional, pero se evidencia un repunte de las otras dosis, la dosis 2 no se diferencia estadísticamente del grupo hegemónico. En tanto que se confirma el peor desempeño para el testigo convencional.

Se observa el desempeño de los tratamiento a los 50 dds, en donde se reafirma la mayor elongación para el testigo convencional y la dosis 3, entre las dosis 1 y 2 no hay diferencias estadísticas.

A los 60 dds de crecimiento se conforman dos grupos, las dosis 1 y 2 conforman un solo rango con el testigo absoluto, mientras que el testigo convencional y la dosis 3, continúan con la hegemonía en la elongación.

A los 70 dds, la dosis 2 se suma al grupo hegemónico con longitudes por encima de los 175 cm, la dosis 1 no se diferencia estadísticamente del mencionado grupo, mientras que el testigo absoluto, prácticamente ha detenido su crecimiento.

Crecimiento del cultivo del cultivo de tomate a los 80 dds, para la parte final de la evaluación, las dosis 2 y 3 se liberan del testigo convencional y lo relegan, pero sin presentar diferencias estadísticas, mismo que conforma un grupo homogéneo con la dosis 1, y como se mencionó, el testigo absoluto no evidencia más crecimiento.

- **Número de flores por planta**

El análisis de varianza para la variable de número de flores por planta se detalla en la tabla 21, en donde se evidencia que para los tratamientos en cada una de las lecturas evaluadas se presentan diferencias estadísticas ( $P= 0,000$ ), a excepción de los 24 dds ( $p=0,0759$ ).

**Tabla 21.** Análisis de varianza para número de flores

FV	GL	24 dds	34 dds	44 dds	54 dds	64 dds	74 dds	84 dds	94 dds
		p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Bloque	3								
Trata.	4	0,0759	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Error	241								
Total	249								
Media									
CV		12,12	14,94	13,98	16,41	13,92	18,05	15,55	19,44

En la tabla 22 se muestran los resultados de la prueba de Tukey para la variable número de flores, en donde de las ocho valoraciones se evidencian diferencias estadísticas en siete.

**Tabla 22.** Prueba de Tukey para la variable número de flores

24 dds			34 dds			44 dds			54 dds		
TRA	Media		TRA	Media		TRA	Media		TRA	Media	
T	s		T	s		T	s		T	s	
TA	3,35	A	TA	6,5	C	TA	7,2	B	TA	6	B
D3	3,8	A	TC	8,5	B	D1	10,85	A	D1	9,9	A
TC	3,9	A	D2	8,75	B	TC	11,4	A	TC	10,15	A
D1	4	A	D1	8,9	B	D2	11,55	A	D2	10,15	A
D2	4,05	A	D3	9,95	A	D3	12,15	A	D3	11,15	A
64 dds			74 dds			84 dds			94 dds		
TRA	Media		TRA	Media		TRA	Media		TRA	Media	
T	s		T	s		T	s		T	s	
TA	6,65	B	TA	7,35	B	TA	1,2	C	TA	1,15	C
D1	10,35	A	D1	9,85	A	TC	5,2	B	TC	5,7	A
D2	10,4	A	D2	9,95	A	D3	5,7	A B	D3	6,5	A
TC	10,5	A	TC	10	A	D1	5,85	A B	D2	6,6	A
D3	10,7	A	D3	10	A	D2	6,8	A	D1	7,4	A

Número de flores por tratamiento a los 34 dds, se determina los resultados para el número de flores según cada tratamiento, en donde se evidencia que los testigos presentan valores más bajos que los tratamientos con *B. subtilis*, pero es necesario destacar que el testigo absoluto tiene valores de hasta el 100% inferiores, con una media de 4,9 flores por plante y entre los tratamientos no existen diferencias estadísticas.

Se muestra el comportamiento de la floración a los 44 días, en donde se confirma que el testigo absoluto presenta los valores más bajos con respecto de esta variable, en tanto que los tratamientos de *B. subtilis* comparado con el testigo convencional no presentan diferencias estadísticas, lo que da a notar que el existe un efecto de los tratamientos con respecto de la floración.

A los 54 dds, se observa que las tres dosis y el testigo absoluto conforman un solo grupo homogéneo con valores superiores a 10 flores, mientras que la diferencia estadística se marca por el bajo registro del testigo absoluto (figura 21).

El comportamiento de la floración a los 64 dds, sigue un patrón similar que en la fase anterior, con dos grupos homogéneos en donde se encuentran las tres dosis del biocontrolador más el testigo convencional y denotando diferencias estadísticas el testigo absoluto.

Se observa la dinámica del número de flores a los 74 dds, en donde el comportamiento del cultivo es similar, a este tiempo el grupo homogéneo presenta valores por encima de 9,85, mientras que el testigo se encuentra en un valor algo superior a 7 flores por planta.

Para los 84 dds, la dinámica del número de flores cambia y la dosis 2 presenta superioridad, pero sin diferenciarse estadísticamente de las otras dosis, pero si es estadísticamente distinto al testigo convencional; la floración para el testigo absoluto ha ido en disminución.

En la fase final, nuevamente se observa un patrón en donde las tres dosis comparten el mismo rango con el testigo convencional, mientras que el valor del testigo absoluto es el que marca la diferencia estadística.

- **Número de frutos por planta**

Los resultados para el análisis de varianza de la variable número de frutos por planta están representados en la tabla 23, en donde es necesario indicar que todas las fuentes y las interacciones muestran diferencias estadísticas, esto denota que los tratamientos tuvieron influencia en los resultados de esta sección.

**Tabla 23.** Análisis de varianza número de frutos por planta

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>40 dds</b>	<b>50 dds</b>	<b>60 dds</b>	<b>70 dds</b>	<b>80 dds</b>	<b>90 dds</b>	<b>100 dds</b>
		p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Bloque	3							
Trata.	4	0,0072	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Error	241							
Total	249							
Media								
C.V.(%)		18,49	14,57	19,23	17,49	16,23	15,91	22,98

En la tabla 24 se observan los resultados para prueba de Tukey en la variable número de frutos, en donde es importante mencionar que todas las evaluaciones efectuadas presentan diferencias estadísticas, sin excepción alguna.

**Tabla 24.** Prueba de Tukey para la variable número de frutos

40 dds			50 dds			60 dds		
TRAT	Medias		TRAT	Medias		TRAT	Medias	
D2	1	C	TA	4,39	C	TA	5,55	B
D1	1,2	B C	D1	5,45	B C	D1	11,4	A
TA	1,41	B C	D2	6,1	A B	TC	11,55	A
TC	1,7	B C	TC	6,8	A	D3	11,9	A
D3	1,9	A	D3	7,2	A	D2	12,4	A
70 dds			80 dds			90 dds		
TRAT	Medias		TRAT	Medias		TRAT	Medias	
TA	11,83	C	TA	12,74	C	TA	11,09	C
TC	15,5	B	TC	16,5	B	TC	16,95	B
D2	16,95	A B	D2	18,1	A B	D3	18,55	A B
D1	17,5	A B	D3	18,45	A B	D2	19,7	A
D3	18,35	A	D1	19,1	A	D1	20,5	A
100 dds								
TRAT	Medias							
TA	8,74	C						
TC	13,75	B						
D3	16,7	A B						
D2	17,5	A						
D1	18,3	A						

Se observa la evolución de la cantidad de frutos según transcurren las tomas de datos, en donde a los 40 dds la dosis 3 es el tratamiento que presenta el mayor registro, mientras que la dosis evidencia el valor más bajo, los dos testigos y la dosis uno, conforman un solo grupo homogéneo.

Número de frutos a los 50 dds, se muestra los resultados para los frutos por planta según los tratamientos estudiados, en donde existe mucha coincidencia con los obtenidos en la anterior sección, con una pequeña diferencia para el testigo convencional, pero los tratamientos de B. subtilis no muestran diferencias estadísticas entre ellos y el testigo absoluto presenta los valores más bajos.

Número de frutos a los 60 dds, se representa el comportamiento de la fructificación, en donde es importante destacar los resultados obtenidos por el testigo absoluto, la cual confirma que es el más bajo y la tendencia se homogeniza entre el testigo convencional y las dosis del biocontrolador.

Se observa la dinámica de la fructificación a los 70 días, en donde la dosis 3 es superior a todos los tratamientos del biocontrolador, pero sin presentar diferencias estadísticas, los dos testigos presentan los valores más bajos, siendo distintos entre ellos estadísticamente.

A los 80 dds, la tendencia es la misma que la fase anterior, pero con cambio en los tratamientos de *B. subtilis* puesto que, la dosis 1 presenta el valor más elevado de frutos. Los testigos tienen el mismo comportamiento que la anterior etapa.

En la figura 31 se distingue el comportamiento del cultivo a los 90 dds, con respecto del número de frutos y la tendencia mejora para los tratamientos de *B. subtilis* puesto que las dosis 2 y 3 forman un grupo homogéneo con los valores más elevados, no se diferencian de la dosis 3 y los testigos continúan con los conteos más reducidos.

En la figura 32 se observa el número de frutos a los 100 dds, en donde los grupos homogéneos son los mismos, pero con valores ligeramente más bajos, en donde se confirma el mejor desempeño para los tratamientos de *B. subtilis*. El testigo absoluto presentó a lo largo del estudio los valores más bajos.

- **Producción**

Los resultados del análisis de varianza para la variable producción están dispuestos en la tabla 24, en donde se puede determinar que en las ocho colectas realizadas durante la ejecución del ensayo se presentaron diferencias estadísticas en cada una de las fases estudiadas ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 25.** Análisis de varianza para producción

FV	GL	87	93	99	105	111	117	124	131
		dds	dds	dds	dds	dds	dds	dds	dds
		p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Bloque	4								
Trat	4	0,0211	0,0002	0,0001	0,0010	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Error	241								
Total	249								
Media									
C.V.(%)		15,36	19,09	11,33	11,72	12,75	19,18	12,54	14,41

Los valores totales de producción en kilogramos por cada tratamiento se detallan a continuación:

- D1 695,70
- D2 690,49
- D3 684,31
- TC 692,77
- TA 440,32

El comportamiento productivo de las dosis de *B. subtilis* y el testigo son estadísticamente similares, pero el que obtuvo mayor productividad es la dosis 1 y el testigo convencional, como fue con las anteriores variables, el testigo absoluto es quien marca la diferencias y obtiene los valores más bajos, con 440 kg.

En la tabla 26 se detallan los resultados de las comparaciones de medias, en donde es necesario destacar que, solo en una valoración se conforman tres grupos homogéneos, que es a los 87 dds, de ahí en adelante los resultados se comportan similar, ya que los tres tratamientos de *B. subtilis* y el testigo convencional, no presentan diferencias estadísticas entre sí.



**Tabla 26.** Prueba de Tukey para la variable producción

87 dds			93 dds			99 dds			105 dds		
Trat	Medias	GH	Trat	Medias	GH	Trat	Medias	GH	Trat	Medias	GH
TA	0,51	B	TA	0,99	B	TA	1,29	B	TA	2,07	B
D2	0,67	AB	D1	1,27	A	D3	1,69	A	D3	2,63	A
D1	0,71	AB	D2	1,27	A	D2	1,83	A	D1	2,7	A
D3	0,73	AB	D3	1,3	A	D1	1,84	A	D2	2,72	A
TC	0,77	A	TC	1,33	A	TC	1,87	A	TC	2,74	A
111 dds			117 dds			124 dds			131 dds		
Trat	Medias	GH	Trat	Medias	GH	Trat	Medias	GH	Trat	Medias	GH
TA	1,62	B	TA	1,72	B	TA	1,37	B	TA	1,43	B
TC	2,57	A	TC	2,78	A	D2	2,61	A	D3	2,6	A
D2	2,64	A	D1	2,84	A	D3	2,61	A	TC	2,61	A
D3	2,66	A	D2	2,87	A	D1	2,63	A	D2	2,66	A
D1	2,7	A	D3	2,89	A	TC	2,65	A	D1	2,71	A

Se muestra la producción del cultivo de tomate según cada tratamiento implementado en la investigación a los 87 dds, en donde las dosis de *B. subtilis* conforman un solo grupo homogéneo que no tienen distinción estadística con el testigo absoluto que presenta el registro más alto de producción, mientras que el testigo convencional obtiene los valores más bajos.

Se puede observar la dinámica de la producción hasta los 93 dds, en donde el comportamiento del testigo absoluto se va consolidando como inferior, pero ya en esta etapa los tratamientos a base del biocontrolador han igualado el nivel de producción del testigo absoluto al punto de conformar el mismo grupo homogéneo, lo cual determina que no se presenten diferencias estadísticas entre ellos, pero este testigo presenta la media más elevada en esta etapa de valoración.

El comportamiento productivo del ensayo a los 99 dds, en esta etapa productivo se evidencia que el testigo convencional mantiene la superioridad productiva, pero no se diferencia estadísticamente de los tratamientos a base de *B. subtilis*. De los tres tratamientos del biocontrolador, la dosis 3 es la que presenta la productividad más baja. En tanto que el testigo convencional productivamente no tiene un desempeño productivo idóneo, su rendimiento es insignificante.

El desenvolvimiento productivo de los tratamientos a los 105 dds, en donde se uniformizado el comportamiento de los tratamientos según los resultados anteriores, el testigo convencional continúa siendo el mejor productivamente, pero no sin presentar diferencias estadísticas con los tratamientos a base de *B. subtilis*. El testigo absoluto registra productividad, pero es necesario tener presente que esta será la tendencia, pues su desenvolvimiento en variables anteriores no fueron las mejores.

Los resultados productivos del ensayo a los 111 dds, en donde los promedios han superados medias de 2,58 kg teniendo que los tratamientos a base de *B. subtilis* y el testigo convencional no presentan diferencias entre sí; el testigo absoluto presenta registros más bajos que en la valoración anterior.

Se detalla el comportamiento productivo a los 117 dds, en donde el promedio esta por encima de los 2,75 kg, además se consolida el buen desempeño de los tratamiento de *B. subtilis*, puesto que no presenta diferencias estadísticas con el testigo convencional. El testigo absoluto registra un ligero aumento en la producción con respecto de la etapa anterior.

se registran los resultados de la producción a los 124 dds, en esta etapa se confirma la tendencia que han mostrado los tratamientos del biocontrolador y las diferencias numéricas son mínimas, esto quiere decir que el comportamiento productivo de estos tratamientos es similar.

Se observa la etapa final de producción a los 131 dds, en donde el comportamiento de la producción es similar para los tratamientos de *B. subtilis* y el testigo convencional, pero aquí hay que destacar que este testigo ya no ostenta el registro más elevado de cosecha, este peldaño le corresponde a la dosis 1.

- **Incidencia *Alternaria spp* y *Phytophthora infestans***

Con respecto de la incidencia de *Alternaria spp* es importante manifestar que ninguna etapa del cultivo la enfermedad se manifestó, ningún tratamiento evidenció la presencia

de este fitopatógeno, es probable que la enfermedad no este presente en la zona, puesto que en este sitio no hay presencia de sistemas productivos de tomate riñón bajo invernadero.

En tanto que, la presencia *Phytophthora infestans* es permanente, los datos demuestran que la incidencia de este fitopatógeno es del 100% en todas las lecturas realizadas, por lo que no es necesario establecer el análisis de varianza porque los datos determinaron total incidencia de la enfermedad.

- **Severidad *Phytophthora infestans***

El análisis de varianza para la severidad de *Phytophthora infestans* se muestra en la tabla 27, en donde es necesario destacar que el estudio no presenta interacción entre lectura, bloque y tratamiento (P= 1), de la misma manera para lectura y bloque (P= 0,5141), las fuentes de variación con interacción son bloque y tratamiento (P= 0,0000) y de manera independiente lectura (P= 0,0069), bloque (P= 0,0002) y tratamiento (P= 0,0000).

**Tabla 27.** Análisis de varianza para severidad de *Phytophthora infestans*

FV	GL	83 dds p-valor	90 dds p-valor	97 dds p-valor	104 dds p-valor
Bloque	3				
Trata.	4	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Error	241				
Total	249				
Media					
C.V.(%)		16,29	11,58	10,36	11,66

En la tabla 28 se observan los resultados para prueba de Tukey en la para severidad de *Phytophthora infestans*, en donde es importante mencionar que todas las evaluaciones efectuadas presentan diferencias estadísticas, sin excepción alguna. Concentrándose las más elevadas en el testigo absoluto.

**Tabla 28.** Prueba de Tukey para la variable severidad *Phytophthora infestans*

83 dds			90 dds		
Trat.	Medias		Trat.	Medias	
D2	0,41	B	D1	0,42	C
D1	0,42	B	D2	0,43	B C
D3	0,43	B	D3	0,48	B C
TC	0,5	B	TC	0,55	B
TA	0,66	A	TA	0,7	A
97 dds			104 dds		
Trat.	Medias		Trat.	Medias	
D1	0,43	B	D1	0,46	B
D2	0,45	B	D2	0,51	B
D3	0,48	B	D3	0,53	B
TC	0,53	B	TC	0,56	B
TA	0,69	A	TA	0,71	A

Severidad de *Phytophthora infestans* a los 83 dds, se representan los resultados obtenidos en el presente estudio para cada lectura registrada, en donde se puede divisar que para los cuatro primeros registros no hay diferencias estadísticas, pero quien determina la variación estadística es el testigo absoluto con severidad por encima del 60%.

Se muestran los valores de severidad de *Phytophthora infestans* a los 90 dds en donde para los tres tratamientos de *B. subtilis* no se presentan diferencias estadísticas. En tanto que los dos testigos presentan los valores más elevados y difieren entre sí.

a los 97 dds, se observan los porcentajes de severidad registrados por cada tratamiento utilizado en el presente estudio, en donde se destaca los resultados alcanzados por los tratamientos con *B. subtilis*, que mantienen los valores más bajos de severidad y que entre ellos no presentan diferencias estadísticas conjuntamente con el testigo convencional, en tanto que el testigo absoluta forma un rango independiente con el valor más elevado.

A los 104 dds los tratamientos con *B. subtilis* presentan valores que desde el 56% al 41%, en donde se constituye que la dosis con mejor desempeño para el control de *Phytophthora infestans* la 1 y la 2, en tanto que la 3 es el tratamiento que presenta los

registros más altos entre estos y el testigo convencional nos es diferente a los valores de estos tratamientos, mientras que se confirman los valores más grandes para el testigo absoluto.

### 4.3 DISCUSIÓN

En el presente acápite se pondrá en contexto los resultados obtenidos contrastados con información que permitirá comprender la utilidad de los tratamientos estudiados en la presente investigación, de este modo se podrá similitudes o diferencias con otros estudios sobre la temática que involucra el *B. subtilis*.

Para la germinación no se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos y los testigos, estos datos son similares para los obtenidos por Cendales et al., (2017) quienes reportan que la germinación máxima del tomate se obtuvo al noveno día en las semillas inoculadas, obteniendo porcentajes de germinación de 86% para los tratamiento de *B. subtilis* y 80% para los testigos, lo que determino que no existan diferencias estadísticas con el control.

Para la variable crecimiento se presenta diferencias estadísticas para fuentes de forma independiente en lo que concierne a lectura y tratamientos, en la primera es un resultado lógico debido al desarrollo fenológico del cultivo, pero con respecto de los tratamientos dan cuenta que existe una influencia de estos, es así que los resultados obtenidos en esta investigación difieren de los informados por Cordón Becerra, (2017), en donde se evaluó la utilización de tres microorganismos para el desarrollo de plántulas de tomate, entre ellos *Bacillus subtilis*, el cual comparado con el testigo no mostró diferencias estadísticas.

En semillero, la evaluación del Damping-off no mostro diferencias estadísticas, probablemente por la calidad de semilla utilizada y los procedimientos implementados, para la conservación de temperatura y humedad, los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los presentados por Acosta et al., (2013), quienes indican que el manejo de del Damping-off por medio de microorganismos benéficos y químicos reducen la incidencia de la marchites de plántulas en el cultivo de tomate, además se resalta que la utilización de *Bacillus subtilis* aplicados una vez por semana

son efectivos en la prevención y control del Damping-off y se reduce la incidencia de la enfermedad de marchitez de las plántulas.

En lo que respecta a la mortalidad se evidenció una diferencia estadística para los tratamientos utilizados y resultando con mayor porcentaje el testigo absoluto, los resultados de esta investigación coinciden con los reportados por Fuentes et al., (2016) quienes indican que se evidencia alta mortalidad de plántulas de tomate en tratamiento testigo (18.79%), por lo tanto se demostró que la aplicación del microorganismo al sustrato es un factor determinante para reducir la incidencia de patógenos que afectan a las raíces de tomate. Además, informan que el 8.86% de mortalidad que registran los tratamientos con *B. subtilis* aplicado al sustrato confirma que se incrementa en 100% la probabilidad de sobrevivencia de las plántulas comparado con el tratamiento testigo.

Para la variable días al trasplante se presenta diferencias estadísticas entre los testigos y los tratamientos de *B. subtilis*, con la utilización del biocontrolador el tiempo es más corto en semillero y en las tres dosis usadas el periodo es similar, en tanto que los testigos presentaron tiempos más prolongados en propagación estos datos coinciden los manifestados por Hernández-Suárez et al., (2010) quien indica que la utilización de *B. subtilis* promueve mayor elongamiento de tejidos principalmente el radicular y por ende con mayor espacio la absorción de nutrientes y agua es más elevada y consecuentemente el crecimiento es más acelerado, razón por la cual los tiempos en semillero se reduce.

En lo que respecta al crecimiento, los tratamientos y el testigo convencional presentan desarrollo similares, mientras que el testigo absoluto, en todas las lecturas tiene el valor más bajo, estos resultados coinciden con los reportados por Luna Martínez et al., (2013) quienes informan que en el crecimiento de las plantas a los 30 días de haberse iniciado el ensayo, los tratamientos con *B. subtilis* habían tenido un efecto positivo en al menos una de las variables evaluadas que aumentaron de manera significativa ( $P \leq 0.05$ ) como es el diámetro del tallo y el peso fresco y seco del vástago, lo que se reflejó en aumentos de biomasa de 17.0 y 20.0 % en tallo y vástago, respectivamente.

El número de flores por planta presentan diferencias estadísticas entre los tratamientos, siendo superiores los grupos que recibieron las dosis de *B. subtilis* y el testigo convencional con respecto del testigo absoluto, los resultados de la presente investigación difieren con los obtenidos por Sánchez López et al., (2012), en donde se manifiesta que los tratamientos a base de *B. subtilis*, mostraron medias de 3,5 flores, resultado muy inferior a los conseguidos en este estudio, además el testigo absoluto solo mostró una flor y cuatro del testigo químico.

La variable número de frutos por planta presenta diferencias estadísticas para tratamientos en interacción con las lecturas y los bloques, por lo que existe incidencia del *B. subtilis* en el cuaje de los frutos, los resultados en la presente investigación mantienen relación con los obtenidos por Espinosa-Vázquez et al., (2019) en donde los tratamientos de *B. subtilis* aplicados al suelo y el follaje obtienen entre 35,1 y 28,8 frutos respectivamente, pero este estudio evaluó todo el ciclo productivo del tomate, en tanto que este estudio alcanzó aproximadamente a evaluar el 50% del periodo productivo. Pero lo más importante es que los tratamientos son inferiores al tratamiento convencional.

En el rendimiento del tomate el testigo convencional supera a los tratamientos con *B. subtilis* llegando a ser más elevado hasta por un 16%, estos resultados difieren de los valores reportados por Hernández-Suárez et al., (2010) quienes utilizan tres cepas de *B. subtilis* de las cuales, dos de ellas son superiores al testigo convencional hasta por el doble, además la combinación de las tres cepas igualmente presenta valores más elevados; solo una cepa es inferior hasta por un 12% del rendimiento.

La incidencia de *Alternaria* spp estuvo ausente entre tanto que *Phytophthora infestans* mantuvo una incidencia del 100%. En lo que respecta a la severidad *P. infestans* los resultados obtenidos en el presente estudio en cierto modo coinciden con los obtenidos por Kumbar et al., (2019), quienes manifiestan que los tratamientos con las bacterias de *B. subtilis* reduce significativamente la severidad del fitopatógeno comparado con el control, pero los valores obtenidos son más elevados a los conseguidos en esta



investigación puesto que los registros de severidad presentan un rango entre 75% y 78%, además, a lo contrario de este trabajo, el control químico es el tratamiento con mejores resultados y alcanza el 65%.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

A pesar de que los tratamientos y los testigos utilizados en la fase de propagación no mostraron diferencias estadísticas para los síntomas de Damping-off, los porcentajes de mortalidad para los tratamientos con *B. subtilis* no superaron el 10% valor que se encuentra en el óptimo y para resaltar aún más la efectividad de las bacterias utilizadas, todos los valores estuvieron por debajo del 8%. Además, las unidades tratadas con el microorganismo benéfico alcanzaron un periodo para estado de trasplante más rápido que los mostrados por los testigos.

La incidencia de *Phytophthora infestans* estuvo con porcentajes de hasta el 100%, los resultados indican que los tratamientos con *B. subtilis* redujeron significativamente la severidad de la enfermedad, obteniendo resultados por debajo del 47% y con resultados excepcionales que llegaron al 41% en interacción con los bloques. Estos valores demuestran que *B. subtilis*, puede ser considerado como una alternativa para el control de *Phytophthora infestans*. En el estudio no se registró la presencia de *Alternaria spp.*

El rendimiento del cultivo despunto con el testigo convencional, superando a los tratamientos con *B. subtilis* por un 16%, determinando que la productividad tiene relación directa con los procesos de fertilización, puesto que en el manejo de las enfermedades del presente estudio el biocontrolador obtuvo resultados similares al químico, por lo tanto, es necesario determinar la diferencia en la cosecha para poder enmendar y corregir las deficiencias.

### 5.2 Recomendaciones

Es necesario investigar alternativas complementarias para el uso de *B. subtilis*, para el control de las enfermedades estudiadas en esta investigación, que bien podría ser otro agente microbiano o alguna opción sustentable como un biol o infusión utilizando

componentes que tienen eficiencia en el control de enfermedades producidas por hongos u oomicetes.

Es importante transferir los resultados obtenidos en la presente investigación a los productores de tomate del norte del Ecuador, ya que está demostrado que *B. subtilis* tiene buena eficiencia para el control del oomicete con mayor patogenicidad y prevalencia en los sectores productivos de solanáceas.

Es necesario que implementen investigaciones con respecto de los procesos de fertilización cuando se apliquen manejos de enfermedades con *B. subtilis*, en tal sentido se podrá manejar adecuadamente dos aspectos fundamentales de la técnica de cultivos de manera sustentable, puesto que si se eleva un aproximado del 16% de productividad en el manejo de enfermedades con *B. subtilis* se podría afirmar que productivamente la utilización de este bioinsumo es bastante beneficioso desde el punto de vista sanitario y productivo.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A., Khan, S. U., Khan, W. U., Saleh, T. A., Khan, M. H. U., Ullah, S., Ali, A., & Ikram, M. (2019). Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. *Comptes Rendus Biologies*, 342(5), 124–135.  
<https://doi.org/10.1016/j.crv.2019.05.002>
- Acosta, A. G., Rocha, R. A. M., López, M., Sánchez, M. de la L. H., & Castro, A. G. (2013). Alternativas para el manejo de Damping off en plántulas de tomate *Lycopersicum esculentum* Mill (L, 1753)(Solanales: Solanaceae). *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 1(1), 1–10.
- Alsudani, A. A., & Raheem Lateef Al-Awsi, G. (2020). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Kühn) and *Fusarium solani* (Marti) causing damping-off disease in tomato with *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens*. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 23(11), 1456–1461.  
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.1456.1461>
- Arana Vallejo, D. (2016). *Evaluación de residuos de plaguicidas en cultivos de tomate riñon (Lycopersicum esculentum Mill), en la zona agrícola de la Isla Santa Cruz, Recinto El Cascajo. Galápagos. 2016.*  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/10504>
- Ariza, Y., & Sánchez, L. (2012). Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *Nova*, 10(18), 149–155.
- Burns, J. R., & Benson, D. M. (2000). Biocontrol of Damping-off of *Catharanthus roseus* Caused by *Pythium ultimum* with *Trichoderma virens* and Binucleate *Rhizoctonia*

Fungi. *Plant Disease*, 84(6), 644–648.

<https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.6.644>

Caicedo, S. E., & Chacón, J. A. (2017). *Pruebas bajo invernadero de cepas de Bacillus subtilis como agente de biocontrol de Alternaria spp. En Brassica oleracea var italica y técnicas de conservación de cepas.*

<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13545>

Cazorla, F. M., Romero, D., Pérez-García, A., Lugtenberg, B. J. J., Vicente, A. de, & Bloemberg, G. (2007). Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizosphere displaying biocontrol activity. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1950–1959. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03433.x>

Cendales, T. C., González, C. A. R., Cuásquer, C. P. V., Alzate, O. A. T., & Rodríguez, A. H. (2017). Efecto de *Bacillus* sobre la germinación y crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L). *Acta Biológica Colombiana*, 22(1), 37.

Cordón Becerra, E. M. (2017). *Efecto de Trichoderma harzianum, Metarhizium anisopliae y Bacillus subtilis en la promoción del crecimiento de plántulas de tomate y pimentón.*

Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1402–1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>

Damalas, C. A., & Koutroubas, S. D. (2016). Farmers' Exposure to Pesticides: Toxicity Types and Ways of Prevention. *Toxics*, 4(1).

<https://doi.org/10.3390/toxics4010001>

- Díaz Pérez, T., & Hernández, D. A. (2003). Comportamiento de la germinación de semillas de tomate tratadas con cloro (Cl). *Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliانا Dimitrova*. <https://aprenderly.com/doc/1558945/comportamiento-de-la-germinaci%C3%B3n-de-semillas-de-tomate-tr...>
- El-Mougy, N. S., El-Gamal, N. G., & Abdel-Kader, M. M. (2007). Control of wilt and root rot incidence in *Phaseolus vulgaris* L. by some plant volatile compounds. *Journal of Plant Protection Research*, 47(3), 255–265.
- Escalona, E., Alvarado, P., Monardes, H., Urbina, C., & Martin, A. (2009). *MANUAL DE CULTIVO DE TOMATE*. Universidad de Chile. [http://www.cepoc.uchile.cl/pdf/Manua\\_Cultivo\\_tomate.pdf](http://www.cepoc.uchile.cl/pdf/Manua_Cultivo_tomate.pdf)
- Escobar, H., & Lee, R. (2009). *Manual de producción de tomate bajo invernadero*. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. <https://www.utadeo.edu.co/es/publicacion/libro/publicaciones/235/manual-de-produccion-de-tomate-bajo-invernadero>
- Espinosa-Vázquez, M. Á., Espinoza-Medinilla, E. E., Orantes-García, C., Garrido-Ramírez, E., & Rioja-Paradela, T. M. (2019). Salicylic acid and *Bacillus subtilis* as control of early blight (*Alternaria solani*) in tomato plants (*Solanum lycopersicum*). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 51(1), 161–171.
- Fuentes, O. C., Mercado, H., & Fuentes, Á. C. (2016). *Efecto del producto comercial Ecoflora en el desarrollo y calidad de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) durante la fase de propagación bajo invernadero*.

- Giovanucci, E. (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(4), 317–331. <https://doi.org/10.1093/jnci/91.4.317>
- Haifa Gruop. (2018, marzo 11). *Crop Guide: Tomato Fertilizer Recommendations*. Haifa Group. <https://www.haifa-group.com/tomato-fertilizer/crop-guide-tomato-fertilizer-recommendations>
- Hashem, A., Tabassum, B., & Fathi Abd\_Allah, E. (2019). Bacillus subtilis: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1291–1297. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>
- Hernández-Suárez, M., Hernández-Castillo, F. D., Lira-Saldivar, R. H., & Gallegos-Morales, G. (2010). Biocontrol de Rhizoctonia solani y Fusarium sp. Con Microencapsulados de Bacillus subtilis y su Efecto en Crecimiento y Rendimiento de Tomate (Lycopersicon esculentum Mill.). *UNIDAD LAGUNA*, 7(1), 17.
- Heuvelink, E. (Ed.). (2018). *Tomatoes* (2nd edition). CABI.
- INEC. (2021). *Estadísticas Agropecuarias* | <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- Infoagro Systems. (2016). *El cultivo del tomate (Parte I)*. [https://www.infoagro.com/documentos/el\\_cultivo\\_del\\_tomate\\_\\_parte\\_i\\_.asp](https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_tomate__parte_i_.asp)
- Ippolito, A., & Nigro, F. (2000). Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection*, 19(8), 715–723. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00095-8](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00095-8)
- Jangir, M., Pathak, R., Sharma, S., & Sharma, S. (2018). Biocontrol mechanisms of Bacillus sp., isolated from tomato rhizosphere, against Fusarium oxysporum f. Sp.

Lycopersici. *Biological Control*, 123, 60–70.

<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.018>

Jaramillo, J. (2013). *Tecnología para el cultivo de tomate bajo condiciones protegidas*.

Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA.

<https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13320>

Joshi, R., & McSpadden Gardener, B. B. (2006). Identification and Characterization of

Novel Genetic Markers Associated with Biological Control Activities in *Bacillus*

*subtilis*. *Phytopathology*, 96(2), 145–154. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0145>

Kefi, A., Slimene, I. B., Karkouch, I., Rihouey, C., Azaeiz, S., Bejaoui, M., Belaid, R.,

Cosette, P., Jouenne, T., & Limam, F. (2015). Characterization of endophytic

*Bacillus* strains from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) displaying

antifungal activity against *Botrytis cinerea* Pers. *World Journal of Microbiology*

*and Biotechnology*, 31(12), 1967–1976. <https://doi.org/10.1007/s11274-015->

1943-x

Kumbar, B., Mahmood, R., Nagesha, S., Nagaraja, M., Prashant, D., Kerima, O. Z.,

Karosiya, A., & Chavan, M. (2019). Field application of *Bacillus subtilis* isolates

for controlling late blight disease of potato caused by *Phytophthora infestans*.

*Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 101366.

Lamichhane, J. R., Dürr, C., Schwanck, A. A., Robin, M.-H., Sarthou, J.-P., Cellier, V.,

Messéan, A., & Aubertot, J.-N. (2017). Integrated management of damping-off

diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(2), 10.

<https://doi.org/10.1007/s13593-017-0417-y>



- Livermore, D. M. (2009). Has the era of untreatable infections arrived? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(suppl\_1), i29–i36.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkp255>
- López, L. (2017). *Manual técnico del cultivo del tomate: Solanum lycopersicum*. Programa Regional de Investigación e Innovación por Cadenas de Valor Agrícola (PRIICA). <https://repositorio.iica.int/handle/11324/3143>
- Lucas, J. A., Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. (2015). Chapter Two—The Evolution of Fungicide Resistance. En S. Sariaslani & G. M. Gadd (Eds.), *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 90, pp. 29–92). Academic Press.  
<https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.001>
- Luna Martínez, L., Martínez Peniche, R. A., Hernández Iturriaga, M., Arvizu Medrano, S. M., & Pacheco Aguilar, J. R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(1), 63–69.
- Mateo-Sagasta, J., Zadeh, S. M., Turrall, H., & Burke, J. O. (2017). *Water pollution from agriculture: A global review. Executive summary* [Report].  
<https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/88070>
- Mezeal, I. A. (2014). Study biocontrol efficacy of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* against *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* causing disease in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 4(4), 175–183.
- Molina, E. (2016). *Fertilización de tomate*. Universidad de Costa Rica.  
<http://www.cia.ucr.ac.cr/pdf/Memorias/FERTILIZACION%20TOMATE%202016.pdf>

- Momol, T., & Pernezny, K. (2006). *Florida Plant Disease Management Guide: Tomato*. University of Florida.
- Pérez, D., & García-Godos, P. (2019). Identificación del agente causal del marchitamiento en *Caesalpinia spinosa* “tara” y el efecto antagónico de aislados de *Bacillus* spp. Y *Trichoderma* sp. *Ecología Aplicada*, 18(1), 51–57.  
<https://doi.org/10.21704/rea.v18i1.1306>
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd Allah, E. F. (2017). *Bacillus*: A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. *Frontiers in Physiology*, 8, 667. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00667>
- Reigart, J. R., & Roberts, J. R. (2013). *Recognition and Management of Pesticide Poisonings*. U.S. Environmental Protection Agency.
- Rodríguez, V. P., Guzmán A, M., Zapata, M. A., & Jaramillo Norña, J. (2007). *Manual técnico buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo condiciones protegidas*. Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13469>
- Romero, D., de Vicente, A., Rakotoaly, R. H., Dufour, S. E., Veening, J.-W., Arrebola, E., Cazorla, F. M., Kuipers, O. P., Paquot, M., & Pérez-García, A. (2007). The Iturin and Fengycin Families of Lipopeptides Are Key Factors in Antagonism of *Bacillus subtilis* Toward *Podosphaera fusca*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 20(4), 430–440. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-4-0430>
- Russell, P. E. (2005). A century of fungicide evolution. *The Journal of Agricultural Science*, 143(1), 11–25. <https://doi.org/10.1017/S0021859605004971>
- Sánchez López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido Rubiano, M. F., & Bonilla Buitrago, R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento

- vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(7), 1401–1415.
- Sánchez Pila, F. (2016). Importancia de los lipopéptidos de *Bacillus subtilis* en el control biológico de enfermedades en cultivos de gran valor económico. *Bionatura*, 1(3), 135–138. <https://doi.org/10.21931/RB/2016.01.03.7>
- Sánchez Soto, V. (2017). Aislamiento e identificación de bacterias con potencial de biocontrol a *Alternaria* sp., asociadas a *Solanum lycopersicum*. *Maestría Ciencias Agrarias*.
- Seminis Andina. (2020). *ETEREI*. Seminis. <https://www.seminis-andina.com/productos/eterei/473>
- Shoda, M. (2000). Bacterial control of plant diseases. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 89(6), 515–521. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)80049-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)80049-3)
- Stanley, N. R., Britton, R. A., Grossman, A. D., & Lazazzera, B. A. (2003). Identification of catabolite repression as a physiological regulator of biofilm formation by *Bacillus subtilis* by use of DNA microarrays. *Journal of Bacteriology*, 185(6), 1951–1957. <https://doi.org/10.1128/JB.185.6.1951-1957.2003>
- Tamayo, P. J., & Jaramillo Noreña, J. E. (2006). *Enfermedades del tomate, pimentón, ají y berenjena en Colombia :guía para su diagnóstico y manejo*. Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13267>
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., Santos-Villalobos, S. de los, Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. de los. (2018). El género *Bacillus* como agente de

control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(1), 95–130. [https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-](https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5)

5

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>

Ye, Y., Li, Q., Fu, G., Yuan, G., Miao, J., & Lin, W. (2012). Identification of Antifungal Substance (Iturin A2) Produced by *Bacillus subtilis* B47 and Its Effect on Southern Corn Leaf Blight. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(1), 90–99. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(12\)60786-X](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(12)60786-X)

Zhang, C., Hu, R., Shi, G., Jin, Y., Robson, M. G., & Huang, X. (2015). Overuse or underuse? An observation of pesticide use in China. *The Science of the Total Environment*, 538, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.031>



## Anexo 2. Certificado del Abstract por parte de idiomas.



### UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI FOREIGN AND NATIVE LANGUAGE CENTER

#### Informe sobre el Abstract de Artículo Científico o Investigación.

**Autor:** Karla Lizeth Portilla Terraza

**Fecha de recepción del abstract:** 2 de septiembre de 2022

**Fecha de entrega del informe:** 2 de septiembre de 2022

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

#### **Observaciones:**

Después de realizar la revisión del presente abstract, éste presenta una apropiada traducción sobre el tema planteado en el idioma Inglés. Según los rubrics de evaluación de la traducción en Inglés, ésta alcanza un valor de 9, por lo cual se validó dicho trabajo.

Atentamente



EDISON BONHERNES  
PEÑAÑIEL ARCOS

Ing. Edison Peñañiel Arcos MSc

**Anexo 3.** Aplicación de *Bacillus subtilis* en la primera fase de semillero.



**Anexo 4.** Aplicación de tratamientos.



**Anexo 5.** Ensayo de la primera fase



**Anexo 6.** Toma de la variable de crecimiento en la primera fase.





**Anexo 7.** Preparación de parcelas para la segunda fase de la investigación.



**Anexo 8.** Recolección de datos de la variable altura de planta.



### Anexo 9. Ensayo de la segunda fase.



### Anexo 10. Aplicación del biocontrolador.



**Anexo 11. Tutorio del cultivo.**



**Anexo 12. Control biológico con trama de cerveza.**



**Anexo 13.** bacillus subtilis y testigo.

