



**Evaluación del efecto de dos cepas de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y producción en dos variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*)**

Chicaiza Bermejo, Klever Geovany

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Ing. Falconí Saá, César Eduardo Ph. D

04 de agosto de 2023



**Departamento de Ciencias de la Vida y de Agricultura**

**Carrera de Ingeniería Agropecuaria**

**Certificación:**

Certifico que el trabajo de titulación **Evaluación del efecto de dos cepas de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y producción en dos variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*)**, fue realizado por el señor: **Chicalza Bermejo, Klever Geovany**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 04 de agosto del 2023



Escaneo y validación de la firma digital  
CESAR  
EDUARDO  
FALCONI  
SAA

**Ing. Falconí Saá, César Eduardo Ph. D**

C. C 060155645-9





Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría:

Yo, **Chicalza Bermejo, Klever Geovany**, con cédula de ciudadanía No. 1724466188, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo titulación: **Evaluación del efecto de dos cepas de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y producción en dos variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*)**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 04 de agosto del 2023

**Chicalza Bermejo, Klever Geovany**

C.C.: 1724466188



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería Agropecuaria**

**Autorización de Publicación:**

Yo, **Chicaiza Bermejo, Klever Geovany**, con cédula de ciudadanía No. 1724466188 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Evaluación del efecto de dos cepas de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y producción en dos variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*)** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 04 de agosto del 2023

**Chicaiza Bermejo, Klever Geovany**

C.C.: 1724466188

## **Dedicatoria**

A Dios, por darme salud y vida para cumplir esta meta que siempre anhele desde niño de ser un profesional.

A mis padres, porque siempre me apoyaron en este largo camino, siendo un pilar fundamental en mi vida y enseñándome día a día a ser una persona de bien.

A mis hermanos, Milton, Carlos y Tania por brindarme su cariño, comprensión y pasar momentos felices a su lado.

## **Agradecimiento**

Agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE a los docentes y autoridades que conforman la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, por contribuir en mi formación como un profesional y brindarme sus conocimientos durante mi etapa de estudiante universitario.

A mi tutor de tesis Ing. César Falconí Ph. D, por permitirme trabajar conjuntamente y compartir sus conocimientos y experiencias, por guiarme durante todo el desarrollo de mi trabajo de titulación.

Al Ing. Darwin Claudio por compartirme sus conocimientos y guiarme durante todo mi trabajo de investigación.

A mis amigos: Maricela Sinailin, Cristian Parra, Jordi Gómez, por brindar su amistad durante mi permanencia en la universidad.

A mis amigas de mi proceso de titulación: Kate Molina y Anita Ayala, gracias por su colaboración y su amistad.

## Índice de contenidos

Carátula .....	1
Certificación: .....	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoría .....	4
Autorización de Publicación .....	5
Dedicatoria .....	6
Agradecimiento.....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas .....	12
Índice de figuras .....	14
Resumen.....	15
Abstract .....	16
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>17</b>
Antecedentes .....	17
Justificación.....	17
Objetivos .....	18
Objetivo General .....	18
Objetivos Específicos .....	19
Hipótesis .....	19
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>20</b>
<b>MARCO REFERENCIAL .....</b>	<b>20</b>
Fresa ( <i>Fragaria x ananassa</i> ).....	20



Descripción.....	20
Situación de la fresa en el Ecuador.....	20
Etapas fenológicas de Fresa ( <i>Fragaria x ananassa</i> ).....	20
Descripción.....	20
Variedades de fresa ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). ....	21
Albión.....	21
Monterrey.....	21
<i>Condiciones edafoclimáticas</i> .....	22
Temperatura.....	22
Suelo.....	22
<i>Bacillus subtilis</i> .....	23
Características.....	23
Promotor de crecimiento.....	23
<i>Bacillus subtilis contribuye a la absorción de nutrientes</i> .....	24
Actividad anti fúngica y antibacteriana.....	24
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>25</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
Ubicación y características del área de estudio.....	25
Preparación de medios cultivo.....	26
Establecimiento del estudio en el invernadero.....	26
Preparación de la mezcla.....	27
Material vegetativo y desinfección.....	27
Trasplante, riego y fertilización.....	27
Podas.....	27

Manejo de malezas .....	27
Manejo de plagas y enfermedades.....	28
Inoculación de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5.....	28
Evaluación de variables.....	29
Altura de planta .....	29
Número de hojas.....	29
Número de estolones y flores.....	30
Longitud de la raíz.....	30
Dinámica poblacional de <i>Bacillus subtilis</i> .....	30
Índice del contenido de clorofila .....	31
Número y peso del fruto.....	31
Diseño experimental.....	31
Análisis estadístico .....	34
<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>35</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>35</b>
Altura de planta .....	35
Índice de clorofila.....	38
Longitud de raíz.....	40
Número de hojas.....	43
Número de estolones.....	44
Número de flores .....	45
Número de frutos.....	46
Peso de fruto.....	47
Discusión.....	49

<b>CAPITULO V .....</b>	<b>51</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>51</b>
Conclusiones .....	51
Recomendaciones.....	51
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>53</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Factores a evaluar .....	32
<b>Tabla 2</b> Tratamientos del estudio .....	33
<b>Tabla 3</b> Altura de plantas (cm) de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5.....	36
<b>Tabla 4</b> Análisis de contrastes para la altura de las plantas de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5.....	37
<b>Tabla 5</b> Índice del contenido de clorofila (SPAD) en plantas de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5.....	38
<b>Tabla 6</b> Análisis de contrastes para el índice del contenido de clorofila de las plantas <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5 .....	39
<b>Tabla 7</b> Longitud de raíz (cm) de las plantas de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5 .....	40
<b>Tabla 8</b> Análisis de contrastes para la longitud de raíz de las plantas <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5 .....	41
<b>Tabla 9</b> Número de hojas de las plantas de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5 .....	43
<b>Tabla 10</b> Número de estolones de las plantas de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5 .....	44
<b>Tabla 11</b> Número de flores de las plantas de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5 .....	45
<b>Tabla 12</b> Número de frutos de las plantas de <i>Fragaria x ananassa</i> var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de <i>B. subtilis</i> CtpxS2-1 y CtpxS3-5 .....	46

**Tabla 13** *Peso del fruto (gr) de las plantas de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5..... 47*

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> <i>Ubicación geográfica del laboratorio de fitopatología</i> .....	25
<b>Figura 2</b> <i>Ubicación geográfica de la Granja Aliyan</i> .....	26
<b>Figura 3</b> <i>Labores culturales en el cultivo de fresa</i> .....	28
<b>Figura 4</b> <i>Inoculación de cepas de Bacillus subtilis</i> .....	29
<b>Figura 5</b> <i>Dinámica poblacional de Bacillus subtilis</i> .....	30
<b>Figura 6</b> <i>Toma de datos de clorofila</i> .....	31
<b>Figura 7</b> <i>Croquis experimental</i> .....	33
<b>Figura 8</b> <i>Crecimiento radicular de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5</i> .....	42
<b>Figura 9</b> <i>Dinámica poblacional cepas de Bacillus subtilis luego de 120 días</i> .....	48

## Resumen

En esta investigación se evaluó el efecto de dos cepas de *Bacillus subtilis* Ctpx S2-1 y Ctpx S3-5 sobre el crecimiento y producción en dos variedades de *Fragaria x ananassa*. Las cepas fueron aplicadas en 54 plantas de fresa repartidas en seis tratamientos (T1: Cepa CtpxS2-1 x Var. Albión; T2: Cepa CtpxS3-5 x Var. Albión; T3: Agua destilada x Var Albión; T4: Cepa CtpxS2-1 x Var. Monterrey; T5: Cepa CtpxS3-5 x Var. Monterrey; T6: Agua destilada x Var Monterrey), todo el estudio se realizó bajo condiciones de invernadero. La variedad Albión inoculadas con las dos cepas de *B. subtilis* presentaron los mejores resultados.

La altura de planta a los 90 ddt fue 24,73 cm en el T1 correspondiente a la variedad Albión y T5 con 21,56 cm correspondiente a la variedad Monterrey, para el contenido de clorofila y longitud de raíz las medias más altas fueron 36,70 y 28,28 al respecto, el inóculo inicial de las dos cepas de *B. subtilis* que se aplicó al suelo fue  $2 \times 10^6$  UFC/mL, a los 120 días se registraron valores de  $5,2 \times 10^8$  UFC/mL cepa CtpxS2-1 suelo y  $4,6 \times 10^8$  cepa CtpxS3-5 UFC/mL suelo. El valor más alto del peso del fruto a los 135 días fue 39 gramos, correspondiente al T1. Los tratamientos que involucran a la variedad Monterrey no evidenciaron mejores resultados a comparación de los tratamientos que involucran a la variedad Albión; pero si en comparación al tratamiento control de la misma variedad.

**Palabras clave:** FRESA, BACILLUS SUBTILIS, CEPAS, ALBIÓN, MONTERREY

## Abstract

In this investigation, the effect of two strains of *Bacillus subtilis* CtpxS2-1 and CtpxS3-5 on the growth and production of two varieties of *Fragaria x ananassa* was evaluated. The strains were applied to 54 strawberry plants divided into six treatments (T1: Strain CtpxS2-1 x Var. Albión; T2: Strain CtpxS3-5 x Var. Albión; T3: Distilled water x Var. Albión; T4: Strain CtpxS2-1 x Var. Monterrey; T5: Strain CtpxS3-5 x Var. Monterrey; T6: Distilled water x Var. Monterrey), the entire study was carried out under greenhouse conditions. The Albion variety inoculated with the two strains of *B. subtilis* presented the best results.

The height of the plant at 90 dtt was 24.73 cm in T1 corresponding to the Albión variety and T5 with 21.56 cm corresponding to the Monterrey variety, for the chlorophyll content and root length the badly high averages were 36, 70 and 28.28 in this regard, the initial inoculum of the two strains of *B. subtilis* that was applied to the soil was  $2 \times 10^6$  CFU/mL, at 120 days values of  $5.2 \times 10^8$  CFU/mL soil were recorded strain CtpxS2-1 and  $4.6 \times 10^8$  strain CtpxS3-5 CFU/mL soil. The highest value of fruit weight at 135 days was 39 grams, corresponding to T1. The treatments involving the Monterrey variety did not show better results compared to the treatments involving the Albion variety; but if compared to the control treatment of the same variety.

**Keywords:** STRAWBERRY, *BACILLUS SUBTILIS*, STRAINS, ALBION, MONTERREY



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### Antecedentes

La fruticultura en los últimos años se ha considerado como una fuente de ingreso para pequeños y medianos productores en los países de Ecuador y Colombia, el incremento del cultivo de fresa *Fragaria ssp.*, se debe a sus propiedades nutricionales y botánicas como el sabor, olor y aroma, lo que permitió el aumento del consumo de esta fruta a nivel local (Sánchez & Ramírez, 2017)

Ciertos microorganismos tienen la capacidad de aumentar el crecimiento y mejorar el ciclo vital de las plantas, las rizobacterias han sido consideradas como promotoras del crecimiento vegetal, gracias a procesos directos e indirectos han logrado contribuir a la producción de compuestos que generan estímulos para el crecimiento y el mejoramiento de la salud de las plantas (Hashem et al., 2019; Yáñez-Mendizábal & Falconí, 2021)

En un análisis transcripcional de *Arabidopsis*, la regulación de auxinas por parte de los COV (Compuestos orgánicos volátiles) de *Bacillus subtilis* GBO3 dio como resultado el inicio de la promoción del crecimiento. La acumulación de auxina descendió en las hojas mientras que ascendió en las raíces después de la exposición a los COV. Se observó un incremento en la fotosíntesis y el contenido de clorofila en plántulas de *Arabidopsis* expuestas a COV de *B. subtilis* GBO3. Las especies de *Bacillus* se consideran las más efectivas porque tienen la capacidad de producir esporas que pueden sobrevivir incluso en condiciones ambientales adversas (Tahir et al., 2017); (Yáñez-Mendizábal et al., 2012)

### Justificación

El uso de fertilizantes químicos en la última década se va vuelto frecuente y necesario en el sector agrícola, utilizándolos como promotores de crecimiento en las plantas sin embargo estos generan un impacto negativo desfavorable para el medio ambiente y a su vez causando una disminución en la fertilidad del suelo; para remediar los daños se ha optado por la utilización e implementación de

rizobacterias (PGRP) que brindan el mismo beneficio siendo una alternativa amigable ecológicamente que permitirá disminuir y sustituir los fertilizantes químicos y restablecer la abundancia de la microbiota en el suelo (Mahapatra et al., 2022).

El equipo ESPE-UDLA (Yáñez-Mendizábal & Falconí, 2018) realizó un estudio enfocado en la evaluación de la eficacia de cuatro cepas de *Bacillus subtilis* con características comprobadas para el control de antracnosis (*Colletotrichum acutatum*) en semillas de lupino y lograron comprobar que las cepas *Bacillus subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5 de 72 h de edad tuvieron alta actividad anti fúngica inhibiendo el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Colletotrichum acutatum* reduciendo la infección de semillas hasta niveles indetectables y aumentando el porcentaje de germinación del lupino (Falconí & Yáñez-Mendizábal, 2022). Adicional a ello, (Yáñez-Mendizábal & Falconí, 2021) mencionan que *Bacillus subtilis* CtpxS2-1 induce el crecimiento radical y promueve la resistencia inducida en la planta.

“La rizobacteria *Bacillus* utilizada en labores de tierras agrícolas provoca la disminución en la descarga de gases de nitrógeno y amoníaco además de cumplir un rol importantísimo en el ordenamiento de los ciclos biogeoquímicos permitiendo una mejor aireación del suelo” (Mahapatra et al., 2022).

El presente estudio está enfocado en el efecto de dos cepas de *Bacillus subtilis*, las mismas que serán utilizadas en dos variedades de plantas de fresa como opción para promover el crecimiento e incrementar la producción, esto nos permitirá evaluar la interacción cepa/variedad en algunos procesos fisiológicos y el ciclo vital de las plantas.

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto de dos cepas de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento y producción en dos variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*).

### Objetivos Específicos

- Evaluar cada 15 días y durante tres meses, la altura, el contenido de clorofila de las plantas de fresa, variedades Albión y Monterrey, bajo la acción de dos cepas de *Bacillus subtilis*.
- Estimar cada 15 días por cuatro meses, la dinámica poblacional de las dos cepas de *Bacillus subtilis* presentes en la rizósfera del cultivo de las variedades de fresa Albión y Monterrey.
- Evaluar a partir de tercer mes el número de estolones y número de flores de plantas de fresa, variedades Albión y Monterrey, cultivadas bajo la acción de dos cepas de *Bacillus subtilis*.

### Hipótesis

**Ho:** La acción de al menos una de las dos cepas de *Bacillus subtilis*, no aumenta de forma estadísticamente significativa, la altura de las variedades Albión y Monterrey de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*).

**Hi:** La acción de al menos una de las dos cepas de *Bacillus subtilis*, aumenta de forma estadísticamente significativa, la altura de las variedades Albión y Monterrey de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*).

## CAPÍTULO II

### MARCO REFERENCIAL

#### **Fresa (*Fragaria x ananassa*).**

##### ***Descripción***

La fresa, pertenece a la familia Rosaceae, subfamilia Rosoideas, tribu Potentilleae, género fragaria, que se origina del latín fragancia. La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) es un fruto que tiene un sabor muy agradable y es uno de los más consumidos e industrializados en todo el mundo. Es muy conocido por sus cualidades botánicas y sus propiedades organolépticas que destacan su aroma, olor y sabor. La fresa constituye una opción alimenticia que favorece a la salud humana por sus antioxidantes, antiinflamatorias y sus efectos anticancerígenos (Garcés, 2021)

##### ***Situación de la fresa en el Ecuador.***

El cultivo de fresa cumple un rol muy importante en la economía de muchas familias de pequeños y medianos productores en especial en la parte central de la región interandina del Ecuador, concentrándose una mayor producción en las provincias de Pichincha, Tungurahua y Cotopaxi, siendo su comercialización y consumo a nivel nacional (Collaguazo, 2021)

#### ***Etapas fenológicas de Fresa (*Fragaria x ananassa*)***

##### ***Descripción***

- Fase de reposo vegetativo o dormancia. Esto se da cuando la planta no tiene crecimiento foliar, y las hojas envejecen y se secan. Generalmente esto sucede cuando hay bajas temperaturas.
- Fase de crecimiento vegetativo. La planta retoma sus procesos biológicos, bioquímicos, fotosintéticos y comienza la formación de hojas nuevas o brotes jóvenes.
- Fase de floración. Cuando en la planta se observan de 3 a 5 flores abiertas.

- Fase de fructificación. Formación y desarrollo de los frutos verdes hasta su etapa de madurez.
- Fase de reproducción vegetativa. En esta etapa la planta requiere mayor cantidad de nutrientes porque inicia la formación y desarrollo estolones (Quispe y Orellana, 2017)

### ***Variedades de fresa (Fragaria x ananassa).***

Existen gran número de variedades distribuidas en Europa y Latinoamérica, pero las de mayor interés son las siguientes:

#### ***Albión***

- Variedad moderadamente neutra.
- Mercado: muy buena aptitud para el mercado fresco ya que es la variedad que acumula mayor cantidad de azúcar, muy demandada también para agroindustria (congelado).
- Planta: de tamaño intermedio, de lento crecimiento inicial con temperaturas bajas en primavera.
- Fruto: color rojo externo de hombros más claro con bajas temperaturas y pulpa de color moderado, con gran acumulación de azúcar (10-14 Brix).
- Fruto muy firme, con excelente vida de poscosecha.
- Enfermedades: mayor resistencia a Oidium.
- Densidad de plantación: 62.000 plantas/ha (27cm entre planta).
- Potencial de rendimiento: 1.200 gr/planta (74 ton/ha). Este rendimiento alcanzado por la variedad bajo condiciones edafoclimáticas y de manejo agronómico óptimas para el cultivo (Adriano, 2017).

#### ***Monterrey***

- Variedad moderadamente neutra, floración más abundante que Albión.

- Mercado: muy buena aptitud para el mercado fresco ya que es una variedad que produce frutos de un sabor sobresaliente en dulzor, también para agroindustria (congelado).
- Planta: de mayor tamaño, de rápido crecimiento vegetativo inicial por lo que debe ser plantada con temperaturas adecuadas, ya que si es plantada con mucho frío presenta exceso de vigor.
- Fruto: color rojo externo parejo y de pulpa roja.
- Fruto firme, con buena vida en poscosecha.
- Enfermedades: más susceptible a Oidium.
- Densidad de plantación: 60.000 plantas/ha (28 cm entre planta).
- Potencial de rendimiento: 1.300 gr/planta (80 ton/ha). Este rendimiento alcanzado por la variedad bajo condiciones edafoclimáticas y de manejo agronómico óptimos para el cultivo (Adriano, 2017).

### ***Condiciones edafoclimáticas***

El cultivo de fresa necesita de las condiciones ambientales que se citan a continuación para alcanzar su máximo rendimiento y mantener saludable a la planta.

### ***Temperatura***

La temperatura que requiere la planta de fresa esta de dentro de un rango de 15 a 20 °C durante el día mientras que en la noche tolera una temperatura entre 15 a 16 °C, pero una baja temperatura durante la formación del fruto puede ocasionar deformaciones en los frutos, por otro lado, la fresa puede soportar temperaturas bajas de hasta 2 °C durante el periodo de dormancia (Ortega, 2015)

### ***Suelo***

La planta fresa se la puede cultivar en varios tipos de suelo, sin embargo, para una buena producción deben tener buen drenaje y contenido de materia orgánica, este no debe ser muy compacto,

previo a la siembra debe ser removido con arado y rastra a una profundidad de 40 cm. El rango óptimo de pH del suelo debe mantenerse entre 5.5 y 7.0 (Medina, 2015).

La granulometría óptima de un suelo para el cultivo de la fresa es aproximadamente:

- 50% de arena (arena de río)
- 20% de arcilla (tierra negra)
- 15% de calizas (cascajo o piedra pomex)
- 5% de materia orgánica (abono orgánico o compost)

### ***Bacillus subtilis***

Las bacterias del género *Bacillus* son bacilos anaerobios facultativos, Gram positivos, se encuentra distribuido en el suelo, aire y agua. La filial de este género de bacteria representa una gran importancia, ya que cumplen valiosas funciones en la industria. En el sector agropecuario se utiliza para varios procesos como promotores de crecimientos, controles biológicos y para ayudar en la descomposición de residuos o desechos orgánicos (Collaguazo y Tenorio, 2018).

### ***Características***

*Bacillus subtilis* es un organismo no patógeno reconocido como seguro por la FDA. Cuenta con actividad probiótica, crece en medios simples y económicos.

La bacteria *B. subtilis*, es Gram positiva, catalasa positiva, mesófila, además que produce endosporas de morfología oval o cilíndrica. Vista en el microscopio se puede apreciar flagelos que le permiten tener movilidad, tienen un tamaño de 0,5 a 2,5  $\mu\text{m}$ ., pueden producir endosporas resistentes que le permiten adaptarse y sobrevivir a condiciones ambientales muy difíciles (Bunce, 2020).

### ***Promotor de crecimiento***

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, están conformadas por una gran variedad de bacterias benéficas que habitan en la rizósfera y que estimulan el crecimiento y desarrollo de las plantas. En el sector agrícola generalmente se ha implementado el uso de microorganismos para mejorar

el manejo de los cultivos como una alternativa de una agricultura sostenible, siendo el principal beneficio la estimulación del crecimiento de las plantas, el mejoramiento del suelo y la inhibición de la acción de microorganismo patógenos. Para que ocurra esta acción los microorganismos deben colonizar la raíz de planta y sus exudados deben tener una gran influencia en la colonización (Cuéllar, 2014).

*B. subtilis* es un microorganismo que tiene la capacidad de promover el crecimiento vegetal (Falconí & Yáñez-Medizábal, 2022); así como también es un controlador biológico ya que bloquea e inhibe el crecimiento de agentes patógenos gracias a sus lipopéptidos generando mayor resistencia a la planta (Yáñez-Medizábal, 2012).

#### ***Bacillus subtilis contribuye a la absorción de nutrientes***

Existen muchas interacciones entre la planta y los microorganismos principalmente en la rizósfera, las cuales son consideradas como beneficiosas y cumple funciones como simbióticas o patogénicas, dentro de estas múltiples funciones benéficas ocurre la absorción de nutrientes como el nitrógeno y fósforo, esta acción se da por medio de cianobacterias y bacterias que facilitan su asimilación por la raíz y posterior distribución a toda la planta. La raíz es considerada como un órgano muy importante de la planta ya que tiene la capacidad de modificar las poblaciones microbiológicas por medio de sus actividades de simbiosis (González, 2012).

#### ***Actividad anti fúngica y antibacteriana***

La acción que ha desempeñado la bacteria *B. subtilis* es inhibir el crecimiento de micelio de hongos patógenos en procesos de poscosecha y cultivados *in vitro*, esto gracias a precipitados blancos alrededor de las colonias bacterianas que se extendían al interior de la zona de inhibición del micelio del patógeno, también los sobrenadantes libres de células de *B. subtilis* inhibieron el crecimiento fúngico en un 89-100% en todos los patógenos estudiados (Yáñez-Medizábal *et al.*, 2012).



### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

##### *Ubicación y características del área de estudio*

El estudio se desarrolló en el laboratorio de Fitopatología y Control Biológico de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria en la Hacienda “El Prado” ubicada en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, parroquia Sangolquí y en la Granja “Aliyan” ubicada en la provincia de Pichincha, cantón Quito, parroquia rural Checa.

Las condiciones ambientales del invernadero de la Granja “Aliyan” son temperatura media 18,04 °C y humedad relativa de 70%, en el laboratorio la temperatura media es de 16,3 °C (D. Muñoz, comunicación personal, 24 de enero de 2022).

##### **Figura 1**

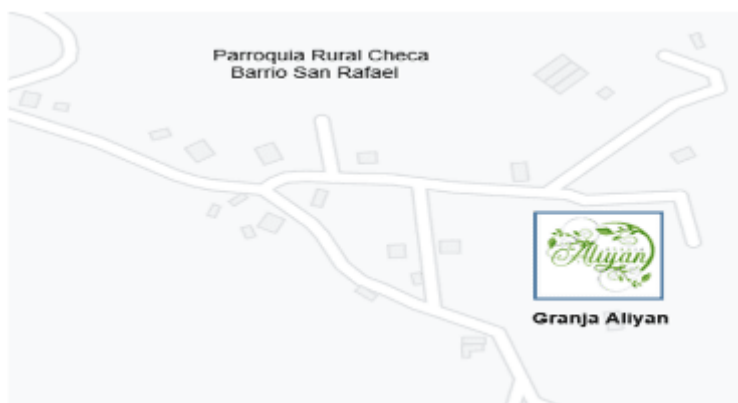
##### *Ubicación geográfica del laboratorio de fitopatología*



*Nota.* Laboratorio de fitopatología de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I. Tomado de (GoogleMaps 2022).

## Figura 2

### Ubicación geográfica de la Granja Aliyan



*Nota.* Esta figura muestra la ubicación de la Granja Aliyan.  
Autoría propia.

### **Preparación de medios cultivo**

Para la producción de *B. subtilis* se utilizó medio NYDA formulado con una fuente nutritiva, extracto de levadura, dextrosa y agar, solución buffer (PBS), que contiene (27,2 g L<sup>-1</sup>) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (34,8 g L<sup>-1</sup>) K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, y medio MOLP (30 g L<sup>-1</sup>) peptona, (20 g L<sup>-1</sup>) sacarosa, (7 g L<sup>-1</sup>) extracto de levadura, (7 g L<sup>-1</sup>) minerales (Yáñez-Medizábal *et al.*, 2012 y Falconí *et al.*, 2022)

### **Establecimiento del estudio en el invernadero**

En el invernadero se establecieron 60 fundas plásticas de color negro (20 cm de alto x 10 cm de diámetro), las fundas fueron distribuidas en 6 columnas y cada columna estuvo conformada por 10 fundas, espaciamiento entre columna de 10 cm. El área que se ocupó para el estudio fue de 4,5 m<sup>2</sup>.

Cada unidad experimental tuvo tres plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* con tres repeticiones. Se evaluaron seis tratamientos, dos cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5, dos variedades de fresa Albión y Monterrey, dos controles con la aplicación de agua destilada (Control).

### ***Preparación de la mezcla***

Las fundas fueron llenadas con una mezcla a base de 30% tierra negra, 40% cascajo (piedra pomex) y 30% cascarilla de arroz. Se utilizó 13,50 kg de tierra negra, 18 kg de cascajo (piedra pomex) y 13,50 kg de cascarilla de arroz, formando una mezcla homogénea con los tres materiales. Para desinfectar la mezcla se aplicó el producto químico Vitavax 300 a una dosis de 0,5 cc l<sup>-1</sup> la cual fue aplicada directamente a cada funda ya llena, mediante drench utilizando una bomba de mochila.

### ***Material vegetativo y desinfección***

Se utilizó 30 plántulas de fresa de la variedad Albión y 30 de la variedad Monterrey, ambas en fotoperiodo neutro. Para la desinfección de las plántulas se empleó el producto químico Vitavax 300 a una dosis de 0,5 cc L<sup>-1</sup>, se sumergieron durante 10 minutos para luego ser trasplantadas.

### ***Trasplante, riego y fertilización***

Se trasplantó una plántula por funda en la parte central. El riego se lo hizo de forma manual con agua común hasta que alcance la capacidad de campo, todos los días una sola vez. Se realizó una fertilización foliar con un producto comercial aplicando a todos los tratamientos y durante todo el estudio.

### ***Podas***

Se podó las flores hasta las 60 ddt para ayudar en el desarrollo vegetativo de las plantas; además se realizó podas sanitarias cada 15 días eliminando hojas y flores que presenten alguna anomalía con la finalidad de evitar la presencia de plagas y enfermedades.

### ***Manejo de malezas***

Esta labor se realizó cada semana, manualmente debido a que la incidencia de malezas es mínima en cultivos con recipientes.

### **Manejo de plagas y enfermedades**

Para el control de las posibles plagas y enfermedades que puedan presentarse durante el tiempo de experimentación se pretendió utilizar el mejor producto químico del mercado local.

### **Figura 3**

#### *Labores culturales en el cultivo de fresa*



*Nota:* a) Preparación del sustrato, b) Plantas de fresa var. Albión, c) Plantas de fresa var. Monterrey, d) siembra de plántulas, e) Poda de flores. Autoría propia.

### **Inoculación de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5**

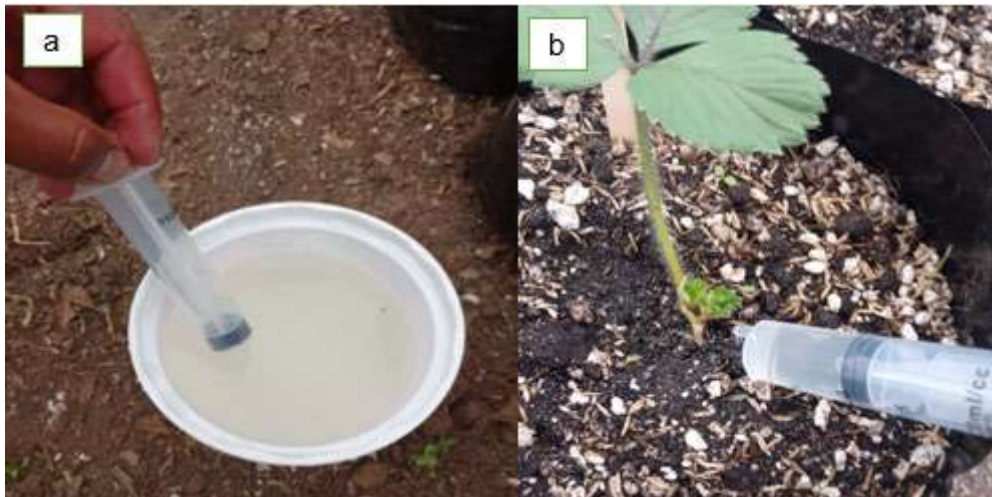
Para la inoculación se utilizó cepas de *B. subtilis* CtpxS2 y CtpxS3-5 de 72 horas crecido en medio de bajo coste a una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/ml, donde se aplicó 50 ml de suspensión bacterianas

directamente a la base del tallo de cada planta. Las inoculaciones se las realizó cada 15 días después del trasplante durante cuatro meses.

Antes de haber realizado la segunda inoculación, con la ayuda de una paleta se tomó muestras de suelo más rizósfera de forma aleatoria y se utilizó 10 gr para realizar la cuantificación de la dinámica poblacional (Falconí *et al*, 2023). De la misma manera se recolectó los datos de todas las variables del estudio. Esta misma metodología se ejecutó antes de cada inoculación cada 15 días.

#### **Figura 4**

*Inoculación de cepas de Bacillus subtilis*



*Nota: a) Cepas de Bacillus subtilis, b) Inoculación de Bacillus subtilis a plantas fresa. Autoría propia.*

#### **Evaluación de variables**

Se evaluó variables de crecimiento y producción de plantas de fresa de las variedades Albión y Monterrey.

#### **Altura de planta**

La altura se midió con un flexómetro desde la base del tallo hasta al centro de la parte apical de la hoja más alta. Se tomó los datos con una frecuencia de 15 días ddt durante tres meses.

#### **Número de hojas**

El número de hojas se cuantificó manualmente cada 15 días ddt durante tres meses.

### ***Número de estolones y flores***

El número de flores y estolones se contó manualmente a partir del tercer mes ddt cada 15 días hasta terminar el estudio.

### ***Longitud de la raíz***

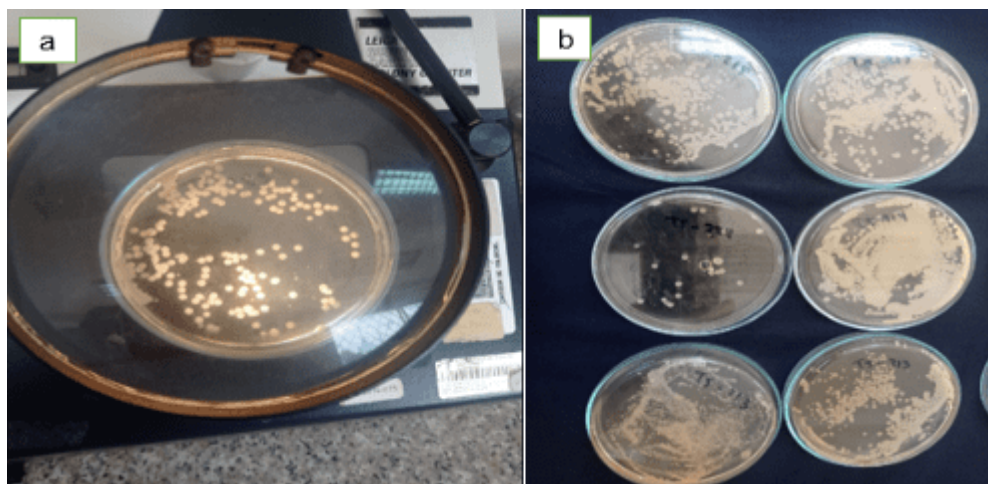
A partir del cuarto mes se seleccionó una planta de cada tratamiento, se limpió las impurezas y posteriormente se lavó las raíces con agua destilada y finalmente se midió con un flexómetro la longitud de la raíz desde la base hasta la parte terminal de la misma.

### ***Dinámica poblacional de *Bacillus subtilis****

La evaluación de la dinámica poblacional, se realizó cada 15 días, durante cuatro meses, a partir de muestras de suelo, con 1 gramo de la muestra colectada y 9 ml de PBS, esta solución se homogenizó con un vortex durante 30 segundos, luego de esto, se preparó diluciones sucesivas hasta obtener una dilución  $10^6$  (Falconí et al., 2022). Después de haber transcurrido 24 horas de incubación a una temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  se contaron las UFC (Unidades formadoras de colonias) de cada caja Petri utilizando el contador de colonias. Los datos colectados nos permitieron construir una población viable.

### **Figura 5**

#### ***Dinámica poblacional de *Bacillus subtilis****



*Nota.* a) Contador de UFC b) Cajas Petri con *Bacillus subtilis*. Autoría propia.

### ***Índice del contenido de clorofila***

Para el índice del contenido de clorofila se realizó lecturas a los tres folíolos de una hoja de cada planta de todos los tratamientos cada 15 días ddt durante tres meses, con la ayuda del medidor de clorofila CCM-200 Chlorophyll Content Meter (opti-Sciences).

### **Figura 6**

*Toma de datos de clorofila*



*Nota.* Lectura de clorofila cada 15 días. Autoría propia.

### ***Número y peso del fruto***

Se realizó una sola cosecha a partir del cuarto mes ddt. Los frutos cosechados fueron pesados en una balanza digital.

### **Diseño experimental**

Para este estudio se estableció un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo bifactorial 2x3 con 3 observaciones.

Se analizó el efecto de dos cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5 en 54 plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*) bajo condiciones de invernadero, se estableció 18 unidades experimentales y cada unidad experimental estuvo conformada por tres plantas de fresa.

**Tabla 1**

*Factores a evaluar*

Factores		
Niveles	F1: Cepas de <i>B. subtilis</i>	F2: Variedades de fresas ( <i>Fragaria x ananassa</i> )
N1	<i>B. subtilis</i> Ctpx2-1	Albi3n
N2	<i>B. subtilis</i> Ctpx3-5	Monterrey
N3	<i>Control</i>	

*Nota.* Los factores se ajustan a un DCA con arreglo bifactorial. Autoría propia.

Asimismo, se emple3 el siguiente modelo matemático lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + D_j + BD_{ij} + E_{ijk}$$

**Donde:**

Y<sub>ijk</sub>= Variables de respuesta

μ= Media general

B<sub>j</sub>= Efecto de la i-ésima cepa de *Bacillus subtilis*

D<sub>j</sub>= Efecto de la j-ésima de la variedad de fresa

BD<sub>ij</sub>= Efecto de la ij-ésima interacción de cepas *Bacillus subtilis* x variedad de fresa

E<sub>ijk</sub>= Error experimental



**Tabla 2**

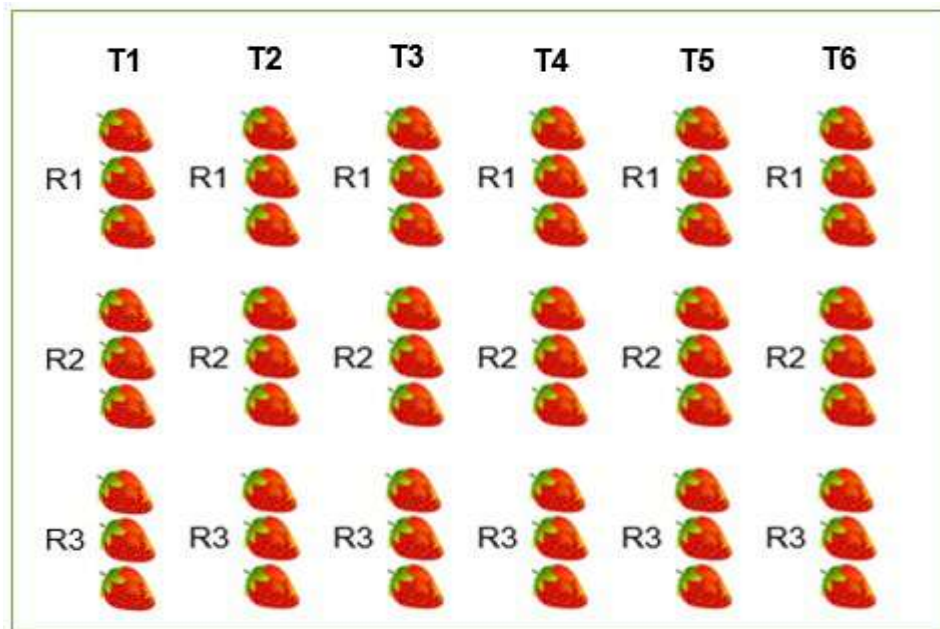
*Tratamientos del estudio*

Tratamiento	Características
T1	Nueve plantas de fresa Var. Albión inoculadas con cepa CtpxS2-1
T2	Nueve plantas de fresa Var. Albión inoculadas con cepa CtpxS3-5
T3	Nueve plantas de fresa Var. Albión-Control
T4	Nueve plantas de fresa Var. Monterrey inoculadas con cepa CtpxS2-1
T5	Nueve plantas de fresa Var. Monterrey inoculadas con cepa CtpxS3-5
T6	Nueve plantas de fresa Var. Monterrey -Control

*Nota:* Descripción de los tratamientos utilizados en la investigación. Autoría propia.

**Figura 7**

*Croquis experimental*



*Nota:* Autoría propia.

## **Análisis estadístico**

Las variables descritas anteriormente, fueron analizadas a través de estadística descriptiva con la finalidad de evaluar el efecto de las dos cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5. Asimismo, se efectuó un análisis de varianza (ANOVA).

También, se realizó una prueba de comparación de medias para las variables altura, longitud de raíz y contenido de clorofila, para definir el mejor tratamiento, los datos registrados serán introducidos en el software estadístico INFOSTAT haciendo uso de un nivel de significancia del 5 %.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSION

#### Altura de planta

En la tabla 3 se puede evidenciar el crecimiento diferenciado entre tratamientos a medida que aumenta los días en la vida de las plantas. A partir de los 15 días después del trasplante las plantas de fresa presentaron diferencias significativas en su crecimiento hasta llegar a los 90 días. Las plantas de la variedad Albión que recibieron *B. subtilis CtpxS2-1* mostraron mayor altura con una media de 24,24 cm, seguido del tratamiento *B. subtilis CtpxS3-5* en la misma variedad presentando una media de 22,92 cm a los 90 días. A partir de los 75 días las plantas disminuyeron su tasa de crecimiento en todos los tratamientos. En el día 90 existieron diferencias significativas entre tratamientos de diferentes variedades inoculadas con la misma cepa en este caso de la variedad Albión x cepa *B. subtilis Ctpx 2-1* y var. Monterrey x *B. subtilis CtpxS2-1*.

Al comprar el efecto de las dos cepas en las dos variedades de fresa los valores más altos corresponden a los tratamientos var. Albión x cepa CtpxS2-1 y var. Albión x cepa CtpxS3-5 seguidos de los tratamientos var. Monterrey x cepa ctpxS2-1 y var. Monterrey x cepa CtpxS3-5 respectivamente.

En la tabla 4 existe significancia en las plantas Testigos vs los tratamientos (Variedades x cepas de *B. Subtilis*) ( $F=11.02$ ;  $p=0.0016$ ) de la misma forma en las plantas var. Albión x *CtpxS2-1*, *CtpxS3-5* vs Monterrey x *CtpxS2-1*, *CtpxS3-5* ( $F=17,03$ ;  $p=0,0001$ ) desde el día 30 al 90, de esta manera se demostró el crecimiento de las plantas en la interacción variedades de *Fragaria x ananassa* y cepas de *Bacillus subtilis*.

**Tabla 3**

Altura de plantas (cm) de *Fragaria x ananassa* var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5

Tratamiento	Día 15		Día 30		Día 45		Día 60		Día 75		Día 90	
	Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.	
T1: Albión x CtpxS2-1	11.39	± 2.35 <sup>A</sup>	16.78	± 2.82 <sup>A</sup>	20.45	± 1.79 <sup>A</sup>	23.52	± 1.22 <sup>A</sup>	23.75	± 1.23 <sup>A</sup>	24.24	± 1.35 <sup>A</sup>
T2: Albión x CtpxS3-5	10.34	± 1.80 <sup>AB</sup>	15.29	± 2.10 <sup>AB</sup>	23.9	± 1.97 <sup>AB</sup>	22.53	± 2.87 <sup>A</sup>	22.57	± 3.06 <sup>AB</sup>	22.92	± 3.13 <sup>A</sup>
T3: Albión-Control	8.94	± 1.80 <sup>BC</sup>	13.59	± 1.61 <sup>BC</sup>	19.14	± 2.09 <sup>BC</sup>	20.88	± 2.24 <sup>B</sup>	21.36	± 2.20 <sup>ABC</sup>	21.72	± 2.34 <sup>AB</sup>
T4: Monterrey x CtpxS2-1	8.13	± 2.55 <sup>BC</sup>	12.53	± 2.86 <sup>C</sup>	16.20	± 2.17 <sup>C</sup>	19.65	± 1.95 <sup>B</sup>	19.92	± 1.96 <sup>BC</sup>	20.08	± 1.94 <sup>B</sup>
T5: Monterrey x CtpxS3-5	9.20	± 2.26 <sup>BC</sup>	12.28	± 2.73 <sup>CD</sup>	15.65	± 2.73 <sup>C</sup>	18.90	± 3.02 <sup>B</sup>	19.35	± 2.97 <sup>C</sup>	19.56	± 2.98 <sup>B</sup>
T6: Monterrey-Control	7.95	± 2.67 <sup>C</sup>	9.96	± 3.46 <sup>D</sup>	12.84	± 3.82 <sup>D</sup>	15.25	± 4.60 <sup>C</sup>	15.92	± 4.56 <sup>D</sup>	16.44	± 4.49 <sup>C</sup>

Nota. Media ± desviación estándar, medias con letras diferentes, difieren estadísticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.

**Tabla 4**

*Análisis de contrastes para la altura de las plantas de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

		15 DDT			30 DDT			45 DDT			60 DDT			75 DDT			90 DDT		
		gl	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s			
Contrastes																			
Controles vs Tratamientos var. (Albi3n-Monterrey) x cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5	C1	1	0.0414	**	0.0015	**	0.0003	**	0.0002	**	0.0009	**	0.0016	**					
Albi3n-Cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5 vs Monterrey-cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5	C2	1	0.0040	**	0.0001	**	0.0001	**	0.0001	**	0.0003	**	0.0001	**					
cepa CtpxS2-1 x var. (Albi3n, Monterrey) vs cepa CtpxS3-5 x var. (Albi3n, Monterrey)	C3	1	0.9556	*	0.3062	*	0.24.63	*	0.3369	*	0.3383	*	0.3172	*					

*Nota.* Valores con  $p > 0.05$  no son estadisticamente significativos, \* no significativo, \*\*significativo. Autoría propia.

## Índice de clorofila

**Tabla 5**

Índice del contenido de clorofila en plantas de *Fragaria x ananassa* var. Albi3n y var. Monterrey por efecto de la inoculaci3n con las cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5

Tratamiento	Día 15		Día 30		Día 45		Día 60		Día 75		Día 90	
	Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.		Media ± D.E.	
T1: Albi3n x CtpxS2-1	15.73	± 2.24 <sup>A</sup>	20.93	± 3.05 <sup>AB</sup>	27.33	± 4.25 <sup>AB</sup>	30.87	± 2.48 <sup>B</sup>	35.29	± 2.46 <sup>A</sup>	27.90	± 9.96 <sup>AB</sup>
T2: Albi3n x CtpxS3-5	17.08	± 3.32 <sup>A</sup>	14.88	± 1.6 <sup>A</sup>	29.04	± 2.02 <sup>A</sup>	34.07	± 3.11 <sup>A</sup>	36.70	± 3.38 <sup>A</sup>	30.75	± 3.01 <sup>A</sup>
T3: Albi3n-Control	15.90	± 1.28 <sup>B</sup>	22.97	± 4.18 <sup>A</sup>	25.49	± 1.66 <sup>B</sup>	29.30	± 1.80 <sup>B</sup>	30.17	± 1.60 <sup>B</sup>	26.57	± 2.62 <sup>AB</sup>
T4: Monterrey x CtpxS2-1	13.33	± 1.72 <sup>B</sup>	18.91	± 2.26 <sup>BC</sup>	26.07	± 2.15 <sup>B</sup>	30.55	± 2.16 <sup>B</sup>	32.03	± 2.83 <sup>B</sup>	25.68	± 1.79 <sup>B</sup>
T5: Monterrey x CtpxS3-5	13.30	± 2.51 <sup>B</sup>	18.72	± 3.09 <sup>BC</sup>	25.20	± 3.02 <sup>B</sup>	29.33	± 3.18 <sup>B</sup>	29.46	± 2.12 <sup>C</sup>	23.66	± 8.66 <sup>BC</sup>
T6: Monterrey-Control	12.25	± 3.16 <sup>AB</sup>	16.44	± 3.68 <sup>C</sup>	21.29	± 2.56 <sup>C</sup>	23.36	± 2.46 <sup>C</sup>	23.46	± 2.12 <sup>C</sup>	18.81	± 1.96 <sup>C</sup>

Nota. Media ± desviaci3n estandar, medias con letras diferentes, difieren estadisticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.

**Tabla 6**

*Análisis de contrastes para el índice del contenido de clorofila de las plantas *Fragaria x ananassa* var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

		15 DDT			30 DDT			45 DDT			60 DDT			75 DDT			90 DDT		
		gl	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s	p valor	ns/s			
Contrastes																			
T vs Tratamientos var. (Albión- Monterrey) x cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5	C1	1	0.2546	*	0.2463	*	0.0001	**	0.0001	**	0.0001	**	0.0082	**					
Albión x cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5 vs Monterrey x cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5	C2	1	0.0002	**	0.0022	**	0.0049	**	0.0031	**	0.0001	**	0.0131	**					
cepa CtpxS2-1 x Var. (Albión, Monterrey) vs cepa CtpxS3-5 x Var. (Albión, Monterrey)	C3	1	0.4056	*	0.3508	*	0.3605	*	0.2306	*	0.0001	**	0.8200	*					

*Nota.* Valores con  $p > 0.05$  no son estadísticamente significativos, \* no significativo \*\*significativo. Autoría propia.

En la tabla 5 se aprecia el incremento del índice de clorofila a medida que aumenta los días, con una media de 30,75 en las plantas var. Albión x cepa *CtpxS3-5* y en las plantas var. Monterrey x *Ctpxs3-5* 23,66 SPAD, evidenciando diferencia significativa entre variedades inoculadas con la misma cepa.

En la tabla 6 existe significancia en las plantas Testigos vs los tratamientos (Variedades x cepas de *B. Subtilis*) (F=7,53; p=0.0082) al igual que en las plantas var. Albión x *CtpxS2-1*, *CtpxS3-5* vs Monterrey x *CtpxS2-1*, *CtpxS3-5* (F=6,59; p=0,0131) al día 90, de esta manera se demostró el incremento del índice de clorofila de las plantas en la interacción variedades de *Fragaria x ananassa* y cepas de *Bacillus subtilis*

### Longitud de raíz

**Tabla 6**

*Longitud de raíz (cm) de las plantas de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

Tratamiento	Día 135		
	Media ± D.E.		
T1: Albión x <i>CtpxS2-1</i>	28.28	±	2.25 <sup>A</sup>
T2: Albión x <i>CtpxS3-5</i>	27.31	±	2.30 <sup>AB</sup>
T3: Albión-Control	24.70	±	1.80 <sup>C</sup>
T4: Monterrey x <i>CtpxS2-1</i>	25.77	±	1.32 <sup>BC</sup>
T5: Monterrey x <i>CtpxS3-5</i>	25.06	±	3.18 <sup>BC</sup>
T6: Monterrey-Control	21.24	±	3.16 <sup>D</sup>

*Nota.* Media ± desviación estándar, medias con letras diferentes, difieren estadísticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.



El valor más alto de la media de la longitud de raíz estuvo presente en el en las plantas var. Albión x cepa CtpxS2-1 con 28.28 cm, el valor más bajo presentaron las plantas var. Monterrey sin inoculación con 21,24 cm, existiendo diferencia significativa entre tratamientos (Tabla 7).

**Tabla 7**

*Análisis de contrastes para la longitud de raíz de las plantas Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

		135 DDT		
		gl	p valor	ns/s
		Contrastes		
Controles vs Tratamientos var. (Albión- Monterrey) y cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5	C1	1	0.0001	**
Albión-Cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5 vs Monterrey- cepas CtpxS2-1, CtpxS3-5	C2	1	0.0031	**
cepa CtpxS2-1 x Var. (Albión, Monterrey) vs cepa CptxS3-5 x Var. (Albión, Monterrey)	C3	1	0.2793	*

*Nota.* Valores con  $p > 0.05$  no son estadísticamente significativos, \* no significativo, \*\*significativo. Autoría propia.

En la tabla 8 existe significancia en las plantas Testigos vs los tratamientos (Variedades x cepas de *B. Subtilis*) ( $F=29,83$ ;  $p=0.0001$ ) al igual que en las plantas var. Albión x *CtpxS2-1, CtpxS3-5* vs Monterrey x *CtpxS2-1, CtpxS3-5* ( $F=9,59$ ;  $p=0,0031$ ) al día 135, de esta manera se demostró el crecimiento de la raíz en la interacción variedades de *Fragaria x ananassa* y cepas de *Bacillus subtilis*.

## Figura 8

Crecimiento radicular de *Fragaria x ananassa* var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5



*Nota.* Tratamientos y testigos de la variable longitud de raíz. Autoría propia.

Los tratamientos inoculados con *Bacillus subtilis* cepas CtpxS2-1 y CtpxS3-5 en las variedades *Fragaria x ananassa* Albión y Monterrey, a simple vista demostraron una gran diferencia en la longitud y crecimiento radicular en comparación a las mismas variedades sin inoculación, las cuales presentaron menor longitud y número de raíces.

## Número de hojas

**Tabla 8**

*Número de hojas de las plantas de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

Tratamiento	Número de hojas	
	Media $\pm$ D.E.	
T1: Albión x CtpxS2-1	3.45	$\pm$ 1.16 <sup>A</sup>
T2: Albión x CtpxS3-5	3,12	$\pm$ 0.96 <sup>B</sup>
T3: Albión-Control	3.17	$\pm$ 0.91 <sup>AB</sup>
T4: Monterrey x CtpxS2-1	3.27	$\pm$ 1.04 <sup>AB</sup>
T5: Monterrey x CtpxS3-5	3.33	$\pm$ 1.24 <sup>AB</sup>
T6: Monterrey-Control	2.88	$\pm$ 0.99 <sup>C</sup>

*Nota.* Media  $\pm$  desviación estándar, medias con letras diferentes, difieren estadísticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.

El tratamiento que presentó el mayor número de hojas fueron las plantas var. Albión x cepa CtpxS2-1 con una media de 3,45 y no existió diferencias significativas entre los demás tratamientos debido a que presentaron valores similares en sus medias (Tabla 9).

## Número de estolones

Tabla 9

Número de estolones de las plantas de *Fragaria x ananassa* var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de *B. subtilis* CtpxS2-1 y CtpxS3-5

Tratamiento	Número de estolones	
	Media $\pm$ D.E.	
T1: Albión x CtpxS2-1	0.95	$\pm$ 1.19 <sup>ABC</sup>
T2: Albión x CtpxS3-5	1.40	$\pm$ 0.99 <sup>AB</sup>
T3: Albión-Control	0.65	$\pm$ 0.75 <sup>C</sup>
T4: Monterrey x CtpxS2-1	1.25	$\pm$ 0.91 <sup>AB</sup>
T5: Monterrey x CtpxS3-5	1.50	$\pm$ 0.76 <sup>A</sup>
T6: Monterrey-Control	0.80	$\pm$ 0.83 <sup>BC</sup>

*Nota.* Media  $\pm$  desviación estándar, medias con letras diferentes, difieren estadísticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.

El tratamiento que presento el mayor número de estolones fueron las plantas var. Monterrey x cepa CtpxS3-5 con una media de 1,50, de esta manera se demostró que no existe diferencias significativas entre los demás tratamientos con inoculaciones debido a que presentaron valores similares en sus medias, sin embargo, existió diferencia significativa entre las plantas var. Albión x cepa CtpxS2-1 y plantas var. Albión sin inoculación, así mismo entre las plantas var. Monterrey x cepa CtpxS3-5 y plantas var. Monterrey sin inoculación (Tabla 10).

## Número de flores

**Tabla 10**

*Número de flores de las plantas de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

Tratamiento	Número de flores	
	Media $\pm$ D.E.	
T1: Albión x <i>CtpxS2-1</i>	1.45	$\pm$ 1.36 <sup>ABC</sup>
T2: Albión x <i>CtpxS3-5</i>	1.60	$\pm$ 1.23 <sup>AB</sup>
T3: Albión-Control	0.80	$\pm$ 0.77 <sup>C</sup>
T4: Monterrey x <i>CtpxS2-1</i>	1.80	$\pm$ 1.06 <sup>A</sup>
T5: Monterrey x <i>CtpxS3-5</i>	1.50	$\pm$ 1.05 <sup>ABC</sup>
T6: Monterrey-Control	0.90	$\pm$ 0.72 <sup>BC</sup>

*Nota.* Media  $\pm$  desviación estándar, medias con letras diferentes, difieren estadísticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.

En la tabla 11 las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS2-1* presentaron el mayor número de flores con una media de 1,80, demostrando que no existió diferencias significativas entre las plantas var. Albión x *CtpxS2-1* y cepa *CtpxS3-5* y las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS3-5* debido a que presentaron valores similares en sus medias, sin embargo, si hubo diferencia significativa entre las plantas var. Albión x cepa *CtpxS3-5* y las plantas var. Albión sin inoculación, así mismo entre las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS2-1* y las plantas var. Monterrey sin inoculación.

## Número de frutos

**Tabla 11**

*Número de frutos de las plantas de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

Tratamiento	Número de frutos	
	Media $\pm$ D.E.	
T1: Albión x <i>CtpxS2-1</i>	1.50	$\pm$ 1.27 <sup>AB</sup>
T2: Albión x <i>CtpxS3-5</i>	1.60	$\pm$ 1.26 <sup>AB</sup>
T3: Albión-Control	0.80	$\pm$ 0.79 <sup>B</sup>
T4: Monterrey x <i>CtpxS2-1</i>	1.90	$\pm$ 0.99 <sup>A</sup>
T5: Monterrey x <i>CtpxS3-5</i>	1.50	$\pm$ 1.08 <sup>AB</sup>
T6: Monterrey-Control	0.90	$\pm$ 0.74 <sup>AB</sup>

*Nota.* Media  $\pm$  desviación estándar, medias con letras diferentes, difieren estadísticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.

Las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS2-1* presentaron el mayor número de frutos con una media de 1,90, además se demostró que no existe diferencias significativas entre las plantas Albión x *CtpxS2-1* y cepa *CtpxS3-5* y las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS3-5* debido a que presentaron valores similares en sus medias, sin embargo, si hubo diferencia significativa entre las plantas var. Albión x cepa *CtpxS3-5* y las plantas var. Albión sin inoculación, así mismo entre las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS2-1* y las plantas var. Monterrey sin inoculación (Tabla 12).

## Peso de fruto

**Tabla 12**

*Peso del fruto (gr) de las plantas de Fragaria x ananassa var. Albión y var. Monterrey por efecto de la inoculación con las cepas de B. subtilis CtpxS2-1 y CtpxS3-5*

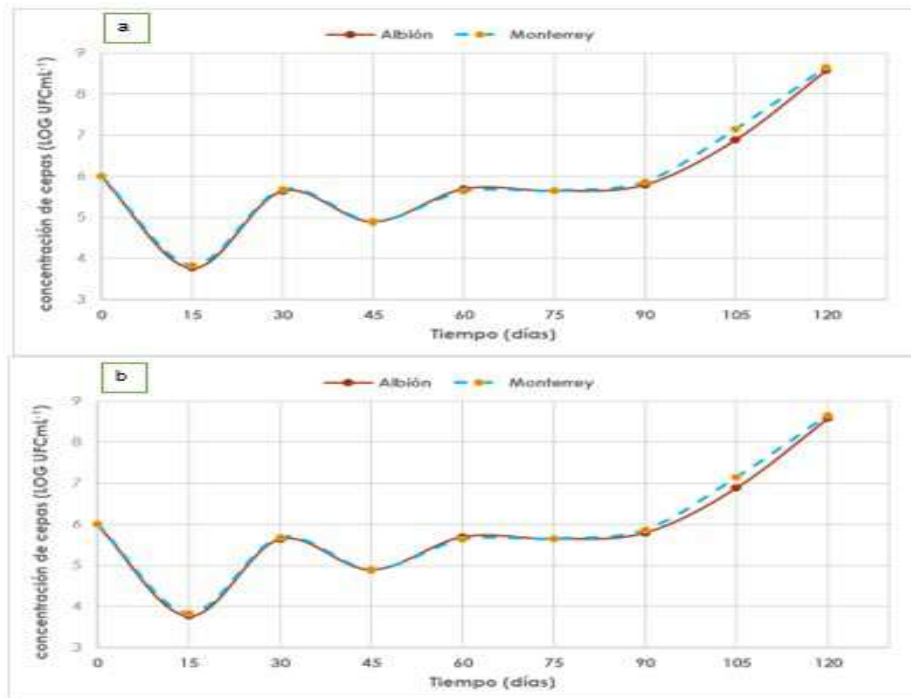
Tratamiento	Peso de fruto	
	Media $\pm$ D.E.	
T1: Albión x <i>CtpxS2-1</i>	15.80	$\pm$ 14.87 <sup>AB</sup>
T2: Albión x <i>CtpxS3-5</i>	19	$\pm$ 14.45 <sup>A</sup>
T3: Albión-Control	6.40	$\pm$ 6.77 <sup>B</sup>
T4: Monterrey x <i>CtpxS2-1</i>	19.70	$\pm$ 12.68 <sup>A</sup>
T5: Monterrey x <i>CtpxS3-5</i>	12.90	$\pm$ 11.28 <sup>AB</sup>
T6: Monterrey-Control	6.90	$\pm$ 6.15 <sup>B</sup>

*Nota.* Media  $\pm$  desviación estándar, medias con letras diferentes, difieren estadísticamente. Duncan ( $\alpha > 0.05$ ). Autoría propia.

En la tabla 13 las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS2-1* presentaron el mayor peso de frutos con una media de 19,70 lo que permitió demostrar que no existe diferencias significativas entre las plantas Albión x *CtpxS2-1* y cepa *CtpxS3-5* y las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS3-5* porque presentaron valores similares en sus medias, sin embargo, si hubo diferencia significativa entre las plantas var. Albión x cepa *CtpxS3-5* y las plantas var. Albión sin inoculación, así mismo entre las plantas var. Monterrey x cepa *CtpxS3-5* y las plantas var. Monterrey sin inoculación.

**Figura 9**

*Dinámica poblacional cepas de Bacillus subtilis luego de 120 días*



*Nota.* a) Dinámica poblacional de la cepa *CtpxS2-1* en variedades de *Fragaria x ananassa* (Albión y Monterrey) y b) Dinámica poblacional de la cepa *CtpxS3-5* en variedades de *Fragaria x ananassa* (Albión y Monterrey). Autoría propia.

El crecimiento poblacional de las cepas de *Bacillus subtilis* *CtpxS2-1* y *CtpxS3-5*, a los primeros 15 días mostró un descenso, pero a medida que transcurre el tiempo se evidenció el crecimiento en las dos cepas. La cepa *CtpxS2-1* inoculada en la variedad Albión y Monterrey comenzó su crecimiento a partir del día 30 con valores de  $6,1 \times 10^4$  UFCmL<sup>-1</sup> y  $4 \times 10^5$  UFCmL<sup>-1</sup> hasta llegar a los 120 días con una concentración de  $5,2 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> para la var. Albión y  $2,9 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> para var. Monterrey (Figura 9a); de la misma manera la cepa *CtpxS3-5* comenzó su crecimiento a partir del día 30 con valores de  $4,4 \times 10^4$  UFCmL<sup>-1</sup> var. Albión y  $4,8 \times 10^5$  UFCmL<sup>-1</sup> var. Monterrey hasta llegar a los 120 días donde su concentración fue de  $3,8 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> para var. Albión y  $4,6 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> para var. Monterrey (Figura 9b).



## Discusión

Delgado-Torres et al. (2022) aplicó *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento en el cultivo de café donde se realizaron mediciones del tallo y conteo de hojas, así como el análisis foliar y de suelo en las parcelas antes y tres meses después de aplicación del tratamiento en donde la altura y el número de hojas se incrementó un 19,76% y 24,27%. En el estudio realizado, a los tres meses ddt las plantas de fresa var. Albión inoculadas con *B. subtilis* cepa *CtpxS2-1* incrementaron su altura con una media de 24,24 cm; asimismo las plantas de fresa var. Monterrey inoculadas con *B. subtilis* cepa *CtpxS2-1* incrementaron su altura con una media de 20,08 cm (Tabla 3). A los tres meses ddt las plantas de fresa var. Albión inoculadas con *B. subtilis* cepa *Ctpx2-1* incrementaron el número de hojas con 3,45 hojas por planta; seguidas de las plantas de fresa var. Albión inoculadas con *B. subtilis* cepa *CtpxS2-1* que incrementaron el número de hojas con 5 hojas por planta (Tabla 9).

Yáñez-Mendizábal y Falconí (2021), mencionan que el crecimiento de raíces y brotes en plántulas de chocho andino tratadas con *CtpxS2-1* aumentaron significativamente por sus extractos de lipopéptidos, específicamente fengycin, al igual que la síntesis de la defensa enzimas catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa. Los resultados del presente estudio indicaron que a los cuatros meses ddt las plantas de fresa var. Albión inoculadas con *B. Subtilis* cepa *CtpxS2-1* aumentaron su longitud de raíz con una media de 28,28 cm seguidas de las plantas de fresa var. Albión inoculadas con *B. Subtilis* cepa *CtpxS3-5* con una media de 27,31 cm (Tabla 7), con estos datos se evidencio que existe interacción entre variedad-cepa y que las cepas de *Bacillus subtilis* por medio de sus extractos lipopeptidos erradican la presencia de enfermedades fúngicas en el suelo (Figura 8).

En cuanto se refiere al número y tamaño de fruto en los estudios realizados en fresa por Esitken et al. (2010) y en Chile Datta et al. (2011), los tratamientos con *Bacillus subtilis* aumentaron el número de fruto. En el estudio, a los cuatro meses ddt las plantas de fresa var. Monterrey inoculadas con *B.*

*subtilis* cepa *CtpxS2-1* aumentaron el número de frutos con 1,90 frutos por planta, seguido de las plantas var. Albión inoculadas con *B. subtilis* cepa *CtpxS3-5* con un valor de 1,60 frutos por planta (Tabla 12).

Erturk *et al.* (2012) menciona que el peso promedio de fruto tuvo buenos resultados en el tratamiento *B. subtilis* MZA aplicado en plantas de fresa incrementó el peso promedio de 3,05 a 19,26% en la variedad Albión. Los mejores resultados de peso de fruto a los cuatro meses ddt estuvieron en las plantas de fresa var. Monterrey inoculadas con *B. subtilis* cepa *CtpxS2-1* con 19,70 gramos por planta; seguido de las plantas de fresa var. Albión inoculadas con *B. subtilis* cepa *CtpxS2-1* con 15,80 gramos por planta (Tabla 13).

En un estudio realizado por Yáñez-Medizábal *et al.* (2011), comprobaron que la bacteria cumple una fase de latencia correspondiente a 5 horas posteriormente evidenciaron crecimiento poblacional alcanzando una población máxima de  $3 \times 10^9$  UFCmL<sup>-1</sup>. En el presente estudio los resultados de la dinámica poblacional se asemejan al anterior; a medida que pasa el tiempo el crecimiento poblacional va aumentando y a los 120 días, tiempo en el que finalizó el estudio reportaron valores de concentración de  $5,2 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> cepa *CtpxS2-1* y  $4,6 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> cepa *CtpxS3-5* (Figura 9).

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### Conclusiones

- Las variedades Albión y Monterrey en interacción con las dos cepas de *Bacillus subtilis* incrementaron la altura de planta desde el día 30 hasta el día 90 reportando un valor máximo en la media de 24,24 cm en la var. Albión y 20,08 cm en la var. Monterrey. Asimismo, el índice de clorofila aumentó progresivamente durante el transcurso del tiempo hasta los 90 días donde reflejó valores de medias de 30,75 en la var. Albión y 25,78 en la var. Monterrey; al contrario de las plantas que no crecieron bajo la acción de las dos cepas de *Bacillus subtilis*.
- Al transcurrir los cuatro meses, se evidenció un notable crecimiento de las dos cepas de *Bacillus subtilis* inoculadas en dos variedades fresa Albión y Monterrey donde reportaron valores de  $5,2 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> en la cepa *CtpxS2-1* y  $4,6 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup> en la cepa *CtpxS3-5*, además de erradicar la presencia y acción de enfermedades fúngicas en las raíces de la planta.
- Todos los tratamientos inoculados con las dos cepas de *B. subtilis* presentaron buenos resultados; 3,27 hojas por planta var. Monterey y 3,45 hojas por planta var. Albión; en la var. Monterrey 1,80 flores por planta y 1,60 flores por planta para la var. Albión; estolones 1,40 por planta para var. Albión y 1,50 por planta para var. Monterrey, esto en comparación a los tratamientos que no se aplicó ninguna de las dos cepas de *B. subtilis*, lo cual demostró que la interacción cepa-variedad contribuyó a que las plantas crezcan y se desarrollen con normalidad.

#### Recomendaciones

- Se recomienda en futuras investigaciones utilizar diferentes dosis de fertilizantes inorgánicos comerciales aplicadas al suelo y que estas no afecten en la vida y actividad de las cepas de *Bacillus subtilis*.

- Se recomienda el uso de *Bacillus subtilis* en el cultivo de fresa aplicado al suelo con la finalidad de controlar y erradicar a los agentes patógenos que causan enfermedades a nivel radicular provocando la muerte de las plantas.
- Se recomienda que para un próximo estudio se añada una variable en la que permita medir y calcular el área foliar y número de raíz ya que se en este estudio no se incluyó estas variables, pero sí tuvieron un efecto positivo al inoculas las cepas de *Bacillus subtilis*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adriano, J. (2017). *Efecto de los ácidos acéticos y acetilsalicílico (Fragaria vesca)*. [Trabajo de Titulación, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8883/1/T-UCE-0004-06.pdf>
- Bunce, R. (2020). *Efecto de la aplicación de Bacillus subtilis a tres frecuencias y tres dosis en brócoli* [Trabajo de Titulación, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.edu.ec/bitstream/25000/22366/1/T-UCE-0004-CAG-274.pdf>
- Collaguazo, B. (2021). *Evaluación de dos antagonistas para el control de pudrición gris (Botrytis cinerea) en frutos de fresa (Fragaria x ananassa)* [Trabajo de Titulación, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/24187/1/UCE-FAG-COLLAGUAZO%20BRYAN.pdf>
- Collaguazo, L., & Tenorio, E. (2018). *Elaboración de biopreparados a base de Bacillus sp. para controlar Alternaria spp. en el cultivo de Brassica oleracea var. italica* [Trabajo de Titulación, Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.edu.ec/bitstream/123456789/15116/1/UPS-QT05244.pdf>
- Cuéllar, T. (2014). *Evaluación de la promoción de crecimiento de Bacillus subtilis EA-CB0575 en cultivos de banano, crisantemo y café* [Tesis de Maestría, Universidad EAFIT]. <http://repository.eafit.edu.co/handle/10784/7845?locale-attribute=es>
- Datta, M., Palit, R., Sengupta, C., Kumar Pandit, M., & Banerjee, S. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria enhance growth and yield of chilli (Capsicum annum L.) under field conditions. *AJCS*, 5 (5). [https://www.researchgate.net/publication/268183454\\_Plant\\_growth\\_promoting\\_rhizobacteria\\_enhance\\_growth\\_and\\_yield\\_of\\_chilli\\_Capsicum\\_annuum\\_L\\_under\\_field\\_conditions](https://www.researchgate.net/publication/268183454_Plant_growth_promoting_rhizobacteria_enhance_growth_and_yield_of_chilli_Capsicum_annuum_L_under_field_conditions)
- Delgado-Torres, N. A., Chumacero-Acosta, J. S., Rodriguez-Perez, L. E., Tuesta-Casique, A., & Alvarez-Arista, Y. (2022). *Bacillus subtilis como promotor de crecimiento en el cultivo de café (Coffea*

- arabica). *Revista Amazónica de Ciencias Ambientales y Ecológicas*, 1(2), 345.  
<https://doi.org/10.51252/reacae.v1i2.345>
- Erturk, Y., Ercisli, S., & Cakmakci, R. (2012). Yield and growth response of strawberry to plant growth-promoting Rhizobacteria inoculation. *Journal of Plant Nutrition*, 35(6), 817–826.  
<https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663437>
- Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Turan, M., & Gunes, A. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae*, 124(1), 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.12.012>
- Falconí, C. E., & Yáñez-Mendizábal, V. (2022). Available Strategies for the Management of Andean Lupin Anthracnose. In *Plants*, 11(5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants11050654>
- Falconí, C. E., Yáñez-Mendizábal, V., & Claudio, D. R. (2022). Native *Bacillus subtilis* Strains Efficiently Control Lupin Anthracnose Both under Greenhouse and in Field Conditions. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 12(6), 2519–2526.  
<https://doi.org/10.18517/ijaseit.12.6.17169>
- Garcés, J. (2021). *Evaluación de tres fertilizantes orgánicos para mejorar la producción de fresa (Fragaria x ananassa)* [Proyecto de Investigación, Universidad Técnica de Ambato].  
<https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/33466>
- González, M. (2012). *Bacillus subtilis como promotora del rendimiento y calidad de fresa* [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional].  
<http://tesis.inp.mx/bitstream/handle/123456789/12272/GONZ%C3%81LEZ%20OUR%C3/%8DAS%20MAR%C3%8DA%20ALEJANDRA%20%20%20B101506.pdf?sequence=1isAllowed=y>
- Hashem, A., Tabassum, B., & Fathi A, Allah, E. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. In *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1291–1297. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>

- Mahapatra, S., Yadav, R., & Ramakrishna, W. (2022). *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. In *Journal of Applied Microbiology*, 132(5), 3543–3562. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/jam.15480>
- Medina, J. (2015). *Evaluación de cuatro abonos orgánicos en la producción de la fresa (Fragaria chiloensis) variedad Albión en la granja San Vicente Ferrer de la parroquia Chuquiribamba cantón Loja provincia de Loja* [Tesis de Grado, Universidad Nacional de Loja]. <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/12346789/13965/1/TESIS%20JUAN%20MEDINA%20definitiva.pdf>
- Ortega, S. (2015). *Rendimiento y calidad del cultivo de fresa con dos soluciones nutritivas* [Tesis Profesional, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <http://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstream/850c5793-50c5-4ba8-bac2-2415493d3aa4/content>
- Quispe, J., & Orellana, J. (2017). *Influencia de dos abonos orgánicos inoculados con trichocastle (Trichoderma harzianum, Trichoderma viride y Trichoderma virens) en el cultivo de fresa Fragaria spp. variedad Camarosa en el distrito de Oxapampa* [Tesis, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión]. <http://repositorio.undac.edu.pe/bitstream/undac/689/1/TESIS%.pdf>
- Sánchez, D., & Ramírez, N. (2017). Diseño de un modelo de programación lineal para la planeación de producción en un cultivo de fresa, según factores costo/beneficio y capacidades productivas en un tiempo temporal definido. *Ingenierías USBMed*, 8(1), 1–6. <https://revistas.usb.edu.co/index.php/IngUSBmed/article/view/2564>
- Tahir, H. A. S., Gu, Q., Wu, H., Raza, W., Hanif, A., Wu, L., Colman, M. V., & Gao, X. (2017). Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Frontiers in Microbiology*, 8, 11-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00171>

- Yáñez-Medizábal, V. del R. (2012). *Potencial de la cepa CPA-8 de Bacillus subtilis como agente de biocontrol de enfermedades de postcosecha de fruta* [Tesis de Doctorado, Universitat de Lleida].  
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/80456/Tvrym1de1.pdf>
- Yáñez-Medizábal, V., Usall, J., Viñas, I., Cañamas, T., & Teixidó, N. (2012). Endospore production allows using spray-drying as a possible formulation systems of the biocontrol agent Bacillus subtilis CPA-8I . *Biotechnology Letters*, 34(4), 729–735. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10529-011-0843-y>
- Yáñez-Medizábal, V., Usall, J., Viñas, I., Casals, C., Marín, S., Solsona, C., & Teixidó, N. (2011). Potential of a new strain of Bacillus subtilis CPA-8 to control the major postharvest diseases of fruit. *Biocontrol Science and Technology*, 21(4), 409–426. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22187082/>
- Yáñez-Medizábal, V., & Falconí, C. E. (2018). Efficacy of Bacillus spp. to biocontrol of anthracnose and enhance plant growth on Andean lupin seeds by lipopeptide production. *Biological Control*, 122, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.004>
- Yáñez-Medizábal, V., & Falconí, C. E. (2021). Bacillus subtilis CtpxS2-1 induces systemic resistance against anthracnose in Andean lupin by lipopeptide production. *Biotechnology Letters*, 43(3), 719–728. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-03066-x>