



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**EFICACIA DE *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., COMO
AGENTES DE BIOCONTROL DE *Fusarium* sp., EN
TOMATE CHERRY, BAJO CONDICIONES
CONTROLADAS**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

Autor: Bryan Alexis Liriano Soriano

LA LIBERTAD, AGOSTO 2026



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA**

**EFICACIA DE *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., COMO
AGENTES DE BIOCONTROL DE *Fusarium* sp., EN
TOMATE CHERRY, BAJO CONDICIONES
CONTROLADAS**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Requisito parcial para la obtención del título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

Autor: Bryan Alexis Liriano Soriano.

Tutor: Blgo. Javier Soto Valenzuela, Ph.D.

Cotutor: Ing. Marlon Mena Montoya, Mgtr.

LA LIBERTAD, AGOSTO 2026

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Bryan Liriano Soriano** como requisito parcial para la obtención del grado de Ingeniero/a Agropecuario de la Carrera de Agropecuaria.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 11/Agosto/ 2026

Ing. Verónica Andrade Yucailla, PhD.
DIRECTORA DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Blga. Valeria Crespo Ochoa, Msc.
PROFESORA ESPECIALISTA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Blgo. Javier Soto Valenzuela, PhD.
PROFESOR TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Nadia Quevedo Pinos, PhD.
PROFESORA GUÍA DE LA UIC
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Washington Perero Vera, Msc.
ASISTENTE ADMINISTRATIVO
SECRETARIO

AGRADECIMIENTOS

Gracias Dios por haberme permitido culminar esta etapa universitaria y lograr un objetivo más en mi vida, Agradezco también a la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE) por haberme dado la oportunidad de obtener una carrera universitaria y darme a mis nuevos amigos, compañeros y colegas de la vida. Gracias a mí familia por qué son el motivo de querer obtenerlo todo en esta vida para poder brindarles lo que se merecen, gracias a mis tutores al Blgo. Javier Soto Valenzuela, Ph.D. y al Ing. Marlon Mena Montoya, Mgtr quienes me acompañaron en este último semestre, quienes aparte de ser excelentes docentes, fueron quienes me dieron consejos y estuvieron en casa paso a mí titulación. Agradezco a cada uno de mis amigos quienes fueron mi mayor ayuda, sin esas ayudas emocionales hoy en día no estuviera escribiendo esto, nombraría a cada uno y les agradecería individualmente, pero sería demasiado, solo me queda decirles GRACIAS y siempre voy a estar agradecido con la vida que, aunque no era la carrera que yo quería, ustedes si eran los amigos que deseaba que estén en mi mundo. Y finalmente agradezco a esa niña que en mi etapa universitaria me enseñó lo que es la felicidad, pero también la tristeza, me enseñó que, aunque hagamos todo bien, no podemos obligar a que se dé, Gracias por haberme dado muchas enseñanzas.

Bryan

DEDICATORIA

Dedico a Dios por haberme cuidado en los buenos y malos momentos, haberme permitido tomar cada decisión que me ha permitido llegar a obtener mi título universitario, sobre todo quiero dedicar este título a quienes ya no están y no pueden ver obtener el título, te lo dedico a ti Mamá, perdona por no darte el título en vida, también se lo dedico a mi mascota Nina quien me acompaño en mis días de tristezas y malas noches mientras realizaba mis actividades académicas. Este título va dedicado para toda familia porque aquí se empieza a escribir un nuevo delegado para la nueva generación Liriano Soriano, dedicado a mis hermanos que hubieran deseado obtener un título universitario, pero por diferentes motivos no lo pudieron obtener. También para todo docente que al transcurso de mi carrera universitaria creyó en mí, para mis dos tutores de titulación y personas que me ayudaron en el transcurso del mismo. Dedicado a mis amigos y amigas quienes creen en mí y también para quienes no creen en mí porque también dan fuerzas para demostrar que si se puede lograr si te lo propones.

Bryan

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia de los agentes de biocontrol *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., para el manejo de *Fusarium* sp., en tomate Cherry (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) en condiciones controladas de laboratorio y vivero. El estudio surgió debido a la importancia económica del cultivo y a las pérdidas ocasionadas por la marchitez vascular causada por *Fusarium* sp., además de la necesidad de implementar alternativas sostenibles que reduzcan el uso de fungicidas sintéticos. Las variables evaluadas fueron porcentaje de germinación, longitud de raíz, longitud del tallo, incidencia del patógeno, severidad, daño radicular e índice de fitotoxicidad. Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$), utilizando el software InfoStat. Los resultados evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. El tratamiento sin inoculación presentó el mayor porcentaje de germinación, mientras que el tratamiento inoculado únicamente con *Fusarium* sp., registró los menores valores de crecimiento y los mayores niveles de daño de raíz. La aplicación de *Bacillus subtilis* redujo la incidencia, severidad, daño radicular, además de favorecer el crecimiento de las plántulas. La combinación de *Bacillus subtilis* con *Penicillium* sp., promovió el mayor desarrollo radicular, mientras que *Penicillium* sp., aplicado de forma individual mostró una eficacia variable frente al patógeno. Se concluye que *Bacillus subtilis* constituye una alternativa promisorio para el manejo biológico de *Fusarium* sp., en tomate Cherry, contribuyendo al desarrollo de sistemas de producción más sostenibles y con menor dependencia de productos químicos en la región.

Palabras Clave: Tomate Cherry, *Fusarium* sp., *Bacillus subtilis*, *Penicillium* sp., Biocontrol, Fitotoxicidad.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the efficacy of the biocontrol agents *Bacillus subtilis* and *Penicillium* sp., for the management of *Fusarium* sp., in Cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) under controlled laboratory and nursery conditions. The study was conducted due to the economic importance of the crop and the losses caused by vascular wilt induced by *Fusarium* sp., as well as the need to implement sustainable alternatives that reduce the use of synthetic fungicides. The variables evaluated were germination percentage, root length, stem length, pathogen incidence, disease severity, root damage, and phytotoxicity index. The data obtained were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and Tukey's mean comparison test ($p < 0.05$), using InfoStat software. The results revealed significant differences among the treatments. The non-inoculated treatment showed the highest germination percentage, whereas the treatment inoculated solely with *Fusarium* sp., recorded the lowest growth values and the highest levels of root damage. The application of *Bacillus subtilis* reduced pathogen incidence, disease severity, and root damage, while also promoting seedling growth. The combination of *Bacillus subtilis* and *Penicillium* sp., promoted the greatest root development, whereas *Penicillium* sp., applied individually showed variable efficacy against the pathogen. It is concluded that *Bacillus subtilis* represents a promising alternative for the biological management of *Fusarium* sp., in Cherry tomato, contributing to the development of more sustainable production systems with reduced dependence on chemical products in the region.

Keywords: Cherry Tomato, *Fusarium* sp., *Bacillus subtilis*, *Penicillium* sp., Biological control, Phytotoxicity.

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

El presente Trabajo de Integración Curricular titulado “Eficacia de *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., como agentes de biocontrol de *Fusarium* sp., en tomate Cherry, bajo condiciones controladas” y elaborado por **Bryan Alexis Liriano Soriano**, declara que la concepción, análisis y resultados son originales y aportan a la actividad científica educativa agropecuaria.

Transferencia de derechos autorales.

"El contenido del presente Trabajo de Graduación es de mi responsabilidad; el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Universidad Estatal Península de Santa Elena".

Firma del estudiante

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Problema de investigación	2
Objetivos de la Investigación.....	3
Objetivo General:.....	3
Objetivos Específicos:	3
Hipótesis	3
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.1 Cultivo de tomate Cherry (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>)	4
1.1.3 Producción actual en Ecuador del cultivo de tomate Cherry	6
1.1.4 Importancia económica y agronómica del tomate Cherry en Santa Elena	6
1.2 Principales problemas fitosanitarios	7
1.3 Ciclo de vida de <i>Fusarium</i> spp.	8
1.3.1 Factores que favorecen el desarrollo de las enfermedades causadas por <i>Fusarium</i> spp.	9
1.4 Métodos de control	10
1.4.1 Biocontrol microbiano como estrategia sostenible	11
1.5 Género <i>Bacillus</i>	12
1.5.1 <i>Bacillus subtilis</i>	12
1.6 Género <i>Penicillium</i>	14
1.6.1 Ciclo de vida	14
1.7 Eficacia de agentes de biocontrol contra <i>Fusarium</i>	15
CAPITULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	17
2.1 Caracterización del área de estudio	17
2.2 Materiales, equipos y reactivos.....	17
2.2.1 Material biológico	17
2.2.2 Material de laboratorio	17
2.2.3 Equipos de laboratorio	18
2.2.4 Reactivos para medios de cultivo.....	18
2.3 Tipo de investigación.....	18
2.4 Diseño de investigación	18
2.5 Diseño experimental	19
2.5.1 Detalles de tratamientos	19
2.6 Manejo del experimento	19
2.6.1 Reactivación y preparación de cepas	19
2.6.2 Preparación de cajas Petri	20
2.6.3 Inoculación de las cepas a las semillas	20
2.6.4 Frecuencia de riego:	21
2.7 Parámetros evaluados	21
2.7.1 Porcentaje de germinación	21
2.7.2 Daño en raíz	21
2.7.3 Porcentaje de severidad.....	22
2.7.4 Incidencia del hongo patógeno	22
2.7.5 Longitud de raíz	23
2.7.6 Longitud de tallo	23
2.8 Análisis estadísticos de los resultados	23
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
3.1 Porcentaje de Germinación	24

3.2	Daño de raíz	25
3.3	Porcentaje de severidad	26
3.4	Incidencia del patógeno	28
3.5	Longitud de raíz	30
3.6	Longitud del tallo.....	31
3.7	Daño de raíz en vivero	32
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		34
Conclusiones.....		34
Recomendaciones		35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		36
ANEXOS.....		41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del tomate Cherry. Fuente: (Hanelt, 2001)	5
Tabla 2. Diseño experimental	19
Tabla 3. Detalles de los tratamientos	19
Tabla 4. Indicador de daño de raíz por (Quilambaqui-Jara, 2004)	22
Tabla 5. Indicador de severidad del patógeno por (Madden, 2021)	22
Tabla 6. Resultados de germinación	25
Tabla 7. Resultados de daño raíz	26
Tabla 8. Severidad del patógeno	28
Tabla 9. Indicador de incidencia de patógeno por (Agrios, 2021)	28
Tabla 10. Incidencia del patógeno	29
Tabla 11. Daño de raíz en la etapa de vivero	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Etapas fenológicas del tomate. Fuente: (infoagronomo, 2023).....	5
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Fusarium</i> spp. Fuente: Agroquímicos Arca S.A.....	9
Figura 3. Desarrollo tipo “swarming” de <i>Bacillus subtilis</i> . A) Crecimiento en placa con Agar Soja Trypticaseína incubada a 28 °C. B) Acercamiento en donde se observa la confluencia de las colonias después de 48 h de incubación.....	13
Figura 4. Morfología de <i>Penicillium</i> spp. Estructura macroscópica: a) Anverso, b) Reverso y c) Estructura microscópica.	15
Figura 5. Vista satelital de la ubicación del CEB-UPSE.	17
Figura 6. Resultados de las longitudes de raíces	30
Figura 7. Resultados de la longitud de tallos en los diferentes tratamientos	32

ÍNDICE DE ANEXOS

- FIGURA A1. Purificación de hongos a utilizar
- FIGURA A2. Caja Petri con hongos
- FIGURA A3. Hongos a utilizar: *Fusarium* sp., y *Penicillium* sp.
- FIGURA A4. Observación e identificación microscópica mediante la técnica de montaje con azul de lactofenol.
- FIGURA A5. Microscopio
- FIGURA A6. *Penicillium* sp.
- FIGURA A7. *Fusarium* sp.
- FIGURA A8. *Bacillus subtilis*
- FIGURA A9. Semillas aplicadas con los diferentes tratamientos
- FIGURA A10. Presencia de esporas de *Fusarium* sp., en varios tratamientos
- FIGURA A11. Resultados de germinación de tomate con los diferentes tratamientos.
- FIGURA A12. Germinación de semillas de Tratamientos 1 (arriba), 2 (en medio) y 3 (abajo).
- FIGURA A 13. Germinación de semillas de Tratamiento 4 (arriba), 5 (en medio) y 6 (abajo).
- FIGURA A14. Etapa en vivero
- FIGURA A15. Presencia de *Penicillium* sp., en el sustrato.
- FIGURA A16. Plántulas de tomate a los 5 días
- FIGURA A17. Plántulas a los 10 días
- FIGURA A 18. Inoculación de las plántulas en fase vivero
- FIGURA A19. Tratamientos en vivero
- FIGURA A20. Resultados de la inoculación a los 16 días.
- FIGURA A21. Toma de datos finales de los tratamientos
- FIGURA A 22. Presencia de síntomas de *Fusarium* sp., en raíz
- FIGURA A 23. Toma de datos de la longitud de raíz
- FIGURA A24. Observación de amarillamiento en tallo por posible *Fusarium* sp.
- FIGURA A25. Resultados finales del tratamiento 1 (arriba), tratamiento 2 (en medio) y tratamiento 3 (abajo)
- FIGURA A26. Resultados finales del tratamiento 4 (arriba), tratamiento 5 (en medio) y tratamiento 6 (abajo)
- FIGURA A27. Tabla Anova del daño de raíz en etapa *in vitro*.

FIGURA A28. Tabla Anova de la incidencia del patógeno en etapa *in vitro*.

FIGURA A29. Tabla Anova de la severidad del daño en etapa *in vitro*.

FIGURA A30. Tabla Anova del daño de raíz en etapa vivero.

INTRODUCCIÓN

El tomate Cherry (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) se ha convertido en una alternativa cada vez más relevante dentro de la agroindustria ecuatoriana por su alto valor nutricional, su demanda en mercados exclusivos y su potencial para diversificar la producción hortícola. Ecuador dispone de condiciones agroecológicas favorables para la producción de tomate Cherry, incluyendo diversidad de clima, altitudes y suelos, lo que permite cultivar bajo distintas modalidades (campo abierto, invernadero, sustratos orgánicos o inorgánicos), con rendimientos que pueden incrementarse significativamente mediante técnicas apropiadas (Ayoví, 2022).

El cultivo de tomate en general (y por extensión el Cherry) tiene gran relevancia socioeconómica en Ecuador. Como cultivo convencional, el tomate de mesa ocupa miles de hectáreas y produce decenas de miles de toneladas anuales. Este cultivo es parte de la canasta básica familiar, con una alta demanda local, lo que refuerza la importancia de mejorarlo y adaptarlo a las exigencias de calidad y sostenibilidad (Zambrano, 2021).

Los cultivos hortícolas como el tomate Cherry (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) son fundamentales en la agricultura ecuatoriana, especialmente en la región de Santa Elena, debido a su alta demanda y valor comercial, sin embargo, su producción se ve amenazada por enfermedades causadas por hongos del género *Fusarium*, los cuales provocan marchitez vascular, pudrición radicular y pérdida progresiva de vigor en las plantas (Leoro, 2021).

Este patógeno, además de ser difícil de erradicar una vez establecidos en el suelo, tiene la capacidad de formar clamidosporas que les permiten persistir durante largos períodos, haciendo que el control químico convencional resulte ineficiente, costoso y ambientalmente insostenible (Yul, y otros, 2016).

A partir de lo descrito, se han explorado alternativas sostenibles como el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) con capacidad antagonista contra *Fusarium* spp. Investigaciones realizadas en Ecuador han demostrado la eficiencia de cepas de *Bacillus subtilis* en la inhibición de *F. oxysporum*. Por ejemplo, en un estudio de Ortega (2024) evaluó in vitro cepas de *Bacillus*, encontrando que *B. subtilis* presentó un porcentaje de inhibición del 42.54 % contra *F. oxysporum*, destacando su potencial como agente biocontrol.

Reyes *et al.* (2019), investigó el biocontrol del marchitamiento vascular del frijol causado por *F. oxysporum* utilizando PGPR, incluyendo cepas de *Bacillus* spp., obteniendo resultados prometedores en la reducción de la incidencia de la enfermedad y mejora de parámetros agrónomicos. Los autores informaron que la cepa "a" de *Bacillus* spp. tuvo una incidencia antagónica del 61.54 %, mientras que la cepa de Actinobacteria fue del 76.93 %. Asimismo, se observó una mejora en parámetros agronómicos como el peso seco y la longitud total de la planta, lo cual demuestra el potencial que tienen estos microorganismos para manejar biológicamente esta enfermedad.

En este sentido, diversos estudios han demostrado que *Penicillium* spp., puede actuar eficazmente como agente de biocontrol contra *Fusarium*. Por ejemplo, la cepa *Penicillium caperatum* MR-16 redujo significativamente la germinación de conidios de *Fusarium oxysporum*, alteró la morfología de su micelio (deformación y degradación) y redujo los síntomas de marchitez en plantas con una eficacia de control cercana al 60.76 % (Han et al., 2023). Del mismo modo, la cepa *Penicillium expansum* ha sido reportada en combinación con otros hongos beneficiosos como *Trichoderma*, logrando reducir la incidencia de marchitez por *Fusarium* en cultivo de pimiento, lo que evidencia su potencial antagonista en condiciones agrícolas (Amer et al., 2023).

Considerando estos antecedentes, la presente propuesta tiene como objetivo evaluar la eficacia de la aplicación de ambas cepas, como estrategia biocontroladora para inhibir *Fusarium* spp. en cultivo de tomate Cherry en *in vitro*.

Problema de investigación

La presencia de *Fusarium* sp., en cultivos hortícolas como el tomate Cherry (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) representa una de las principales limitantes para la producción sostenible en regiones agrícolas como la provincia de Santa Elena, Ecuador. Este patógeno afecta el desarrollo vegetal desde la etapa inicial hasta la producción, reduciendo la calidad y el rendimiento del cultivo. A pesar del uso actual de productos químicos, los resultados no siempre son eficaces y tienden a generar efectos adversos en el ambiente y salud humana. En este contexto, surge la necesidad de explorar alternativas sostenibles como el biocontrol con microorganismos benéficos. Entre ellos, *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., que han demostrado potencial antagonista contra *Fusarium* sp., sin embargo, su aplicación combinada aún requiere validación empírica en condiciones de laboratorio.

¿Cuál es la efectividad de la estrategia biocontroladora con *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., en comparación con el método convencional para el manejo de *Fusarium* sp., en el cultivo de tomate Cherry?

Objetivos de la Investigación

Objetivo General:

Evaluar la capacidad de *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., para reducir la incidencia de *Fusarium* sp. en condiciones *in vitro* en tomate Cherry.

Objetivos Específicos:

1. Determinar el agente de biocontrol con mayor eficacia para reducir la incidencia de *Fusarium* sp. en condiciones controladas.
2. Evaluar el efecto de los tratamientos biológicos sobre la incidencia, severidad y daño radicular causada por *Fusarium* sp.
3. Determinar el efecto de los tratamientos sobre la germinación y el desarrollo inicial de las plántulas de tomate Cherry inoculadas con *Fusarium* sp.

Hipótesis

La aplicación individual o combinada de *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., reducen significativamente la incidencia, severidad y daño radicular asociados a *Fusarium* sp., y favorece al crecimiento inicial de plántulas de tomate Cherry en comparación con el tratamiento inoculado únicamente con el patógeno.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Cultivo de tomate Cherry (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*)

El tomate Cherry es una variedad de tomate de fruto pequeño, ampliamente valorado en la agricultura moderna por su sabor dulce, alto contenido nutricional y adaptabilidad a diversos sistemas de producción, incluyendo cultivos en invernadero, campo abierto e hidroponía. Esta hortaliza, originaria de Sudamérica, ha ganado popularidad tanto en mercados locales como internacionales, debido a su versatilidad culinaria y demanda creciente en el consumo fresco. Según Fandiño (2018), el tomate Cherry presenta ventajas frente a otros tipos de tomate como un ciclo vegetativo más corto y una mayor tolerancia a enfermedades en determinadas condiciones agroclimáticas.

En el periodo reciente, la producción de tomate Cherry ha sido impulsada por prácticas agrícolas más sostenibles, mejoramiento genético y tecnologías de manejo integrado (Camacho, 2017). Estudios como el de Méndez (2020), destacan que el cultivo responde favorablemente a sistemas de fertirrigación y manejo ecológico del suelo, lo cual permite optimizar el rendimiento sin comprometer la calidad del fruto. Asimismo, el enfoque hacia la producción orgánica y el control biológico de plagas ha fomentado la investigación en variedades resistentes a patógenos como *Fusarium* spp. y *Botrytis cinerea* (Rodríguez, 2023), lo que fortalece su potencial como cultivo rentable y sostenible en diversas regiones agrícolas.

1.1.1 Taxonomía del tomate Cherry

Esta variedad se diferencia genéticamente del tomate convencional por su mayor contenido de sólidos solubles, alta acidez y mayor expresión de genes relacionados con el desarrollo de frutos pequeños y dulces (Mata-Nicolás, 2020). Además, conserva una mayor variabilidad genética, lo que la hace valiosa para programas de mejoramiento y estudios de resistencia a plagas y enfermedades. A continuación, se presenta el cuadro de la taxonomía del cultivo de tomate Cherry:

Tabla 1. Taxonomía del tomate Cherry. Fuente: (Hanelt, 2001)

Categoría	Clasificación
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum lycopersicum</i>
Variedad	<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>
Nombre común	Tomate cherry
Origen	Sudamérica (zona andina, Perú-Ecuador)

1.1.2 Fisiología del tomate Cherry

Desde el punto de vista fisiológico, el tomate Cherry presenta un crecimiento determinado o indeterminado, dependiendo de la variedad, y se caracteriza por un sistema radicular profundo y eficiente en la absorción de nutrientes. Su desarrollo está influenciado por factores como la fotoperiodicidad, temperatura óptima (20 – 27 °C) y una buena disponibilidad de agua y nutrientes (Rodríguez, 2019). La planta posee tricomas glandulares que pueden secretar compuestos de defensa, además de estomas en ambas caras de las hojas que regulan la transpiración. Durante la floración (Figura 1), el cultivo es altamente sensible al estrés hídrico, y la polinización puede ser favorecida por la acción de insectos como los abejorros (*Bombus* spp.). La fisiología del fruto incluye una rápida acumulación de azúcares, licopeno y carotenoides, especialmente en condiciones de buena radiación solar y manejo eficiente del riego y nutrición (Camacho, 2017).



Figura 1. Etapas fenológicas del tomate. Fuente: (infoagronomo, 2023)

1.1.3 Producción actual en Ecuador del cultivo de tomate Cherry

La producción de tomate Cherry en Ecuador ha experimentado un notable crecimiento en los últimos años, impulsada por la demanda tanto nacional como internacional de productos frescos y de alta calidad (Márquez-Zambrano, 2023).

Diversas investigaciones han abordado aspectos técnicos y económicos relacionados con el cultivo de tomate Cherry en el país. Por ejemplo, un estudio realizado en la comunidad de Cuchucún, en el cantón Cañar, propone el diseño de un invernadero para la producción orgánica de tomates Cherry. Las investigaciones destacan la viabilidad financiera del proyecto, con un Valor Actual Neto (VAN) de \$38,996.70 y una Tasa Interna de Retorno (TIR) del 29 %, lo que indica una rentabilidad atractiva para los productores interesados en prácticas agrícolas sostenibles (Sisalima, 2022).

En términos de mercado, Ecuador se beneficia de su ubicación estratégica y condiciones climáticas favorables para la producción de tomate Cherry durante todo el año. Esto permite a los productores ecuatorianos abastecer tanto al mercado interno como a la exportación, contribuyendo al crecimiento económico del sector agrícola del país (Ministerio de Agricultura, 2022).

1.1.4 Importancia económica y agronómica del tomate Cherry en Santa Elena

El tomate Cherry tiene en la provincia de Santa Elena importancia tanto económica como agronómica y constituye un cultivo de alto valor en la canasta hortícola local que genera ingresos y empleo rural, aprovecha las condiciones costeras para ciclos de producción intensiva (Márquez, 2023). Según datos de Agro Bayer Ecuador (2008), la producción anual de tomate en el país asciende a aproximadamente 62 mil toneladas, siendo Santa Elena una de las principales productoras, junto con los valles de Azuay. El cultivo de esta variedad ha permitido a los agricultores diversificar sus ingresos, acceder a mercados más rentables y mejorar su calidad de vida. Sin embargo, enfrentan desafíos como enfermedades, plagas y competencia de productos importados a precios más bajos, lo que ha llevado a algunos productores reducir el área sembrada y considerar el tomate como un cultivo de menor prioridad (Reyes y Rudy, 2017).

Desde el punto de vista agronómico, el cultivo de tomate Cherry en Santa Elena presenta ventajas significativas. La región cuenta con condiciones climáticas favorables,

como temperaturas calidas y disponibilidad de agua, que son ideales para el desarrollo de este cultivo. Además, prácticas como la producción bajo invernadero y el uso de técnicas de cultivo sostenible han permitido mejorar los rendimientos y la calidad del producto (Zambrano et al., 2023).

1.2 Principales problemas fitosanitarios

El cultivo de tomate Cherry es susceptible al ataque de diversas enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus, las cuales afectan significativamente el rendimiento y la calidad de los frutos. Entre las enfermedades más importantes destacan el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), el moho gris (*Botrytis cinerea*), la fusariosis (*Fusarium* spp.) y enfermedades de poscosecha ocasionadas por hongos como *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger*. Estos patógenos provocan lesiones en hojas, tallos y frutos, aceleran la descomposición del producto y generan importantes pérdidas económicas para los productores. Además, las condiciones de alta humedad y temperaturas moderadas favorecen el desarrollo y la dispersión de estos organismos, por lo que su manejo requiere estrategias integradas que incluyan prácticas culturales, control biológico y monitoreo permanente (Manjarres, 2021).

Asimismo, entre las principales plagas que afectan al tomate Cherry se encuentran la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), los trips (*Frankliniella occidentalis*), los pulgones (Aphididae), la araña roja (*Tetranychus urticae*) y diversas especies de orugas, las cuales ocasionan daños directos al alimentarse de hojas, flores y frutos, además de actuar como vectores de enfermedades virales que reducen considerablemente la productividad del cultivo. Debido a la alta rentabilidad del tomate Cherry, en muchos sistemas de producción se incrementa el uso de fertilizantes y plaguicidas para controlar estos problemas fitosanitarios; sin embargo, un manejo excesivo de estos insumos puede ocasionar impactos ambientales negativos y aumentar los costos de producción. En consecuencia, diversos estudios recomiendan implementar programas de manejo integrado de plagas y enfermedades, priorizando el control biológico, el monitoreo continuo y el uso racional de productos fitosanitarios para garantizar una producción sostenible (Guo, 2021).

1.3 Ciclo de vida de *Fusarium* spp.

El ciclo de vida de *Fusarium* spp, uno de los principales agentes causales de la marchitez vascular del tomate, inicia con la permanencia del hongo en el suelo en forma de clamidosporas, estructuras de resistencia que pueden sobrevivir durante varios años en ausencia del hospedero. Cuando las condiciones de humedad, temperatura y presencia de exudados radicales son favorables, estas estructuras germinan y producen hifas que colonizan la rizósfera. La infección ocurre principalmente a través de heridas o de las raíces jóvenes, desde donde el hongo penetra los tejidos y avanza hacia el sistema vascular de la planta (Dean, 2022).

Una vez dentro de la raíz, el micelio invade el xilema y produce abundantes microconidios, los cuales son transportados por la corriente de agua hacia los tejidos superiores. La colonización del sistema vascular provoca la obstrucción de los vasos conductores debido al crecimiento del micelio, la formación de esporas y la acumulación de sustancias producidas tanto por el patógeno como por la planta. Como consecuencia, se reduce el transporte de agua y nutrientes, manifestándose síntomas característicos como amarillamiento de las hojas inferiores, marchitez progresiva, necrosis vascular y, en infecciones severas, la muerte de la planta (Gordon, 2022).

Finalmente, cuando la planta muere o los residuos vegetales permanecen en el suelo, *Fusarium* spp., completa su ciclo formando nuevamente clamidosporas en los tejidos infectados y en el suelo, lo que le permite sobrevivir durante largos periodos y actuar como fuente de inóculo para nuevos cultivos. La dispersión del patógeno puede ocurrir mediante suelo contaminado, agua de riego, herramientas agrícolas, semillas y material vegetal infectado. Debido a esta elevada capacidad de supervivencia y dispersión, el manejo integrado que incluye agentes de biocontrol, rotación de cultivos y medidas de bioseguridad constituye una estrategia fundamental para reducir la incidencia y severidad de la enfermedad (Ploetz, 2023).



Figura 2. Ciclo de vida de *Fusarium* spp. Fuente: Agroquímicos Arca S.A

1.3.1 Factores que favorecen el desarrollo de las enfermedades causadas por *Fusarium* spp.

El desarrollo de las enfermedades causadas por *Fusarium* spp. depende de la interacción entre el patógeno, el hospedero y las condiciones ambientales. Entre los factores más importantes se encuentran la temperatura, la humedad del suelo y la presencia de inóculo. El hongo presenta un desarrollo óptimo en temperaturas comprendidas entre 25 y 28 °C, mientras que los suelos con alta humedad o drenaje deficiente favorecen la germinación de las clamidosporas y la colonización de las raíces. Además, la permanencia del patógeno en el suelo durante largos períodos incrementa el riesgo de infección en cultivos susceptibles (Michielse, 2022).

Las características físicas, químicas y biológicas del suelo también influyen significativamente en la incidencia de la enfermedad. Suelos con baja materia orgánica, desequilibrios nutricionales, pH inadecuado y escasa diversidad microbiana favorecen el establecimiento y proliferación de *Fusarium* spp. Asimismo, prácticas agrícolas como el monocultivo continuo, el uso de semillas contaminadas, el exceso de fertilización nitrogenada y la ausencia de rotación de cultivos aumentan la población del patógeno y la probabilidad de infección en las plantas (Dita, 2021).

Por otra parte, el estado fisiológico del hospedero desempeña un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Plantas sometidas a estrés hídrico, daños mecánicos en las raíces, deficiencias nutricionales o ataques previos de otros patógenos presentan

mayor susceptibilidad a la infección por *Fusarium* spp. En este contexto, la implementación de prácticas de manejo integrado, como el uso de microorganismos antagonistas, variedades tolerantes, rotación de cultivos y un adecuado manejo del riego y fertilización, contribuyen a disminuir las condiciones favorables para el desarrollo del patógeno y reducir las pérdidas ocasionadas por la enfermedad (Dean, 2022).

1.4 Métodos de control

El manejo de *Fusarium* spp., debe realizarse mediante un enfoque integrado que combine prácticas culturales, biológicas y químicas, debido a la capacidad del patógeno para sobrevivir durante largos períodos en el suelo mediante clamidosporas. Entre las medidas culturales más recomendadas se encuentran el uso de semillas certificadas y libres de patógenos, la eliminación de residuos vegetales infectados, la rotación de cultivos con especies no hospederas y el empleo de sustratos desinfectados. Estas prácticas contribuyen a disminuir la cantidad de inóculo presente en el suelo y reducen la probabilidad de infección en los cultivos de tomate (Ploetz, 2021).

El control biológico ha adquirido gran importancia como alternativa sostenible para el manejo de *Fusarium* spp. Diversos estudios han demostrado que microorganismos benéficos como *B. subtilis* y especies de *Penicillium* ejercen actividad antagonista mediante la producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas, sideróforos y compuestos volátiles, además de inducir mecanismos de resistencia sistémica en las plantas. Estas características permiten reducir la incidencia y severidad de la enfermedad, al tiempo que favorecen el crecimiento y desarrollo del cultivo, disminuyendo la dependencia de fungicidas sintéticos (Morales-Cedeño, 2021; Karačić, 2024).

El control químico constituye otra herramienta utilizada para disminuir la incidencia de la marchitez vascular, principalmente mediante la aplicación de fungicidas sistémicos y protectantes autorizados para el cultivo. No obstante, su eficacia suele ser limitada cuando el patógeno ya ha colonizado el sistema vascular, además de que el uso continuo de estos productos puede favorecer la aparición de cepas resistentes y generar impactos negativos sobre el ambiente y los microorganismos benéficos del suelo. Por esta razón, actualmente se recomienda implementar programas de manejo integrado de enfermedades, combinando medidas preventivas, control biológico, prácticas culturales y monitoreo permanente del cultivo para lograr un control más eficiente y sostenible de *Fusarium* spp (Dean, 2022).

1.4.1 *Biocontrol microbiano como estrategia sostenible*

El biocontrol microbiano se ha consolidado como una alternativa ecológica frente al uso intensivo de fungicida y otros agroquímicos en el cultivo de tomate, incluyendo Cherry. Estudios actuales en Ecuador han demostrado que la aplicación de consorcios microbianos que incluye bacterias ácido-lácticas, *Saccharomyces*, *Streptomyces*, entre otros, pueden reducir significativamente la mortalidad de plantas causada por *Fusarium* spp., logrando efectos comparables a los de los fungicidas químicos tradicionales. Por ejemplo, en condiciones de invernadero, tratamientos con estos microorganismos redujeron la mortalidad de plantas del 15-40 % frente al control químico, mejorando la sostenibilidad del sistema de producción (Rodríguez, 2022).

Además, el uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal como *Trichoderma harzianum* ha mostrado ser eficaz tanto como agente biocontrolador como en la promoción del vigor vegetal. En un estudio se evaluó el antagonismo de *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium* spp. bajo condiciones de laboratorio e invernadero, donde algunos tratamientos presentaron ausencia de marchitez en las plantas y redujeron notablemente los síntomas de fusariosis, lo que evidencia su potencial para implementarse en zonas productoras como Santa Elena (Valle, 2025).

El uso de organismos vivos para reducir la incidencia de plagas y enfermedades, constituye una estrategia clave para la agricultura sostenible, al ofrecer una alternativa más amigable con el ambiente frente al uso intensivo de plaguicidas químicos. Dentro de los microorganismos que han mostrado eficacia en esta función, destacan *B. subtilis*, con mecanismos, ventajas y retos propios. Aunque ambos microorganismos ofrecen ventajas, varios estudios señalan que la eficacia del biocontrol depende no solo del antagonismo hacia el patógeno, sino también del ambiente microbiano circundante (Berg, 2017).

Algunos ejemplos concretos muestran que cepas de *B. subtilis* pueden inhibir significativamente hongos como *Colletotrichum gloeosporioides* (causante de antracnosis en *Capsicum annuum*), mediante lisis de hifas, degradación de paredes celulares y producción de enzimas como quitanasa, glucanasa y celulasa (Ashwini y Srividya, 2013).

En un estudio realizado en la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), Méndez y Solís (2026), detectaron que *Fusarium* spp., es uno de los hongos fitopatógenos más relevantes relacionados con el cultivo de tomate en varias áreas productivas de la provincia de Santa Elena. Además, señalaron que la existencia de este patógeno supone un peligro para la producción del cultivo; por tal motivo, aconsejaron poner en práctica tácticas de gestión integrada para disminuir su incidencia. Estos resultados apoyan la relevancia de examinar a los agentes de control biológico, como *Penicillium* spp., y *B. subtilis*, representan opciones sostenibles para reducir la gravedad de las enfermedades causadas por *Fusarium* spp., en distintas condiciones productivas.

1.5 Género *Bacillus*

El género *Bacillus* comprende bacterias gram-positivas, formadas por esporas, ampliamente distribuidas en diversos ecosistemas, incluyendo los agroecosistemas. Estas bacterias han sido objeto de numerosos estudios debido a su capacidad para actuar como agentes de control biológico y promotores del crecimiento vegetal (Villareal, 2018).

En estudios específicos, cepas de *B. amyloliquefaciens* han demostrado actividad antifúngica significativa contra *F. oxysporum*, reduciendo su crecimiento y la morfología del micelio y los conidios del hongo patógeno. Este efecto se atribuye a los metabolitos presentes en el filtrado de cultivo de la bacteria, que controla el desarrollo del patógeno (Cruz, 2021).

En el contexto ecuatoriano, investigaciones recientes han explorado el uso de *Bacillus* spp., como alternativa sostenible para mejorar la producción agrícola. Por ejemplo, un estudio evaluó cepas nativas de *Bacillus* spp., en el rendimiento de maíz forrajero, encontrando que estas bacterias favorecen la disponibilidad de nutrientes, mejoran el crecimiento de las plantas e incrementan el rendimiento, lo que sugiere su potencial aplicación en otros cultivos (Rodríguez, 2020).

A continuación, se describen características morfológicas y bioquímicas de la especie utilizada en esta investigación:

1.5.1 *Bacillus subtilis*

Esta bacteria Gram-positiva, formadora de esporas, es reconocida por su capacidad de promover el crecimiento vegetal y actuar como agente de control biológico contra

diversos fitopatógenos, incluyendo especies del género *Fusarium*. Es un organismo aerobio, de bastones generalmente de 0.7 – 0.8 por 2.0 – 3.0 μm , el protoplasma de células cultivadas en agar glucosa se tiñe uniformemente, en su mayoría móviles, tienen flagelos peritricos largos y abundantes; esporas elipsoidal o cilíndrica, central o paracentral, esporangios distendidos ligeramente (Figura 3); temperatura máxima de crecimiento 45-55 °C; temperatura mínima 5-20 °C (Cuenca, 2024).

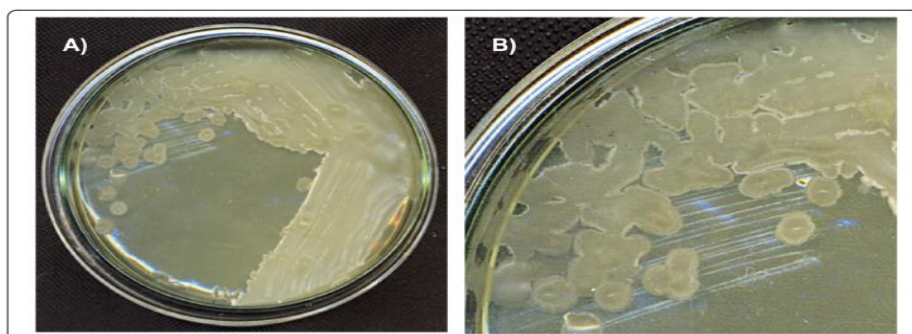


Figura 3. Desarrollo tipo “swarming” de *Bacillus subtilis*. **A)** Crecimiento en placa con Agar Soja Tripticaseína incubada a 28 °C. **B)** Acercamiento en donde se observa la confluencia de las colonias después de 48 h de incubación.

Varios estudios han explorado el uso de *B. subtilis* como promotor de crecimiento en cultivos de importancia económica, como, por ejemplo, en el cultivo de café (*Coffea arabica*), la aplicación de la cepa *B. subtilis* BS290 resultó en un incremento significativo en la altura de las plantas y el número de hojas, en comparación con plantas no tratadas. Estos resultados sugieren que *B. subtilis* puede ser una herramienta eficaz para mejorar el rendimiento de cultivos en diversas regiones agrícolas (Delgado-Torres, 2022).

1.5.1.1 Ciclo de vida

El ciclo de vida de *B. subtilis*, una bacteria grampositiva de vida libre común en el suelo y en la rizosfera de las plantas, se caracteriza por una transición entre formas vegetativas y esporuladas. En condiciones favorables, *B. subtilis* crece mediante división binaria, produciendo células hijas idénticas que se multiplican rápidamente. Durante esta etapa, la bacteria también puede formar biopelículas, especialmente en raíces de plantas, facilitando su actividad como biofertilizante o agente de biocontrol (Kolter, 2013).

Cuando las condiciones ambientales se tornan desfavorables, como la escasez de nutrientes, *B. subtilis* inicia un proceso de diferenciación celular altamente regulado

llamado esporulación. Este proceso implica una secuencia precisa de eventos moleculares y morfológicos que culminan con la formación de una espora endógena resistente, capaz de sobrevivir largos periodos en estado latente (Higgins y Dworkin, 2012).

Una vez que, las condiciones vuelven a ser favorables, las esporas germinan, reanudando el crecimiento vegetativo. La germinación implica la detección de señales como aminoácidos, azúcares y sales minerales, que activan la degradación de la envoltura de la espora y la reactivación del metabolismo celular (Zhou et al., 2022). Este ciclo continuo de crecimiento, esporulación y germinación le permite mantenerse en ambientes agrícolas e interactuar positivamente con las plantas y actuar como un microorganismo beneficioso.

1.6 Género *Penicillium*

Penicillium es un género amplio de hongos filamentosos que incluye especies con roles muy diversos: saprótrofos del suelo, descomponedores, productores de metabolitos útiles y en algunos casos, agentes de biocontrol y promoción vegetal. Revisiones recientes muestran un interés creciente en el uso de cepas no-micotoxigénicas de *Penicillium* como PGPF (Plant-Growth-Promoting Fungi) y como antagonistas de fitopatógenos en sistemas agrícolas y postcosecha. Estas revisiones analizan tanto los mecanismos de acción como las limitaciones relacionadas con la presencia potencial de micotoxinas en algunas especies (Dom et al., 2025).

En cuanto a mecanismos útiles contra *Fusarium* spp., la literatura reciente documenta antibiosis mediante metabolitos antifúngicos (compuestos poliénicos, isocuomarinas, enzimas), competencia por espacio y nutrientes en el medio rizosférico o en tejido vegetal, y estimulación de las defensas del hospedero. Ensayos in vitro reportan inhibiciones de crecimiento radial y alteraciones en morfología del micelio de *Fusarium* cuando se confrontan con cepas de *Penicillium*, especialmente si se combina con bacterias beneficiosas como *Bacillus* (Win et al., 2021).

1.6.1 Ciclo de vida

El ciclo de vida de *Penicillium* comienza con la germinación de los conidios: las esporas asexuales (conidios) permanecen en reposo hasta hallar un sustrato y condiciones ambientales favorables, momento en que se hinchan, establecen polaridad y forman un

tubo germinativo que origina hifas y un micelio vegetativo que coloniza el sustrato por alargamiento apical y ramificación. Estudios experimentales muestran como factores abióticos modulan la lactancia y la velocidad de germinación y crecimiento radial en especies como *P. camemberti*, lo que explica variaciones en el tiempo de desarrollo entre cepas y condiciones (Valle et al., 2023).

A medida que el micelio madura, se diferencian conidióforos (estructuras áreas con fiálides) que producen cadenas de conidios y permiten una rápida liberación y dispersión por aire, agua o contacto; bajo condiciones óptimas este ciclo puede completarse en días, facilitando explosiones poblacionales en suelos, frutas y ambientes controlados. Además, investigaciones genómicas y de diversidad recientes señalan que, aunque la producción asexual por conidios es la vía predominante en el género, existe variaciones entre especies y diferencias en la capacidad de producir metabolitos secundarios rasgos críticos a considerar cuando se selecciona cepas para biocontrol (Requena et al., 2023).

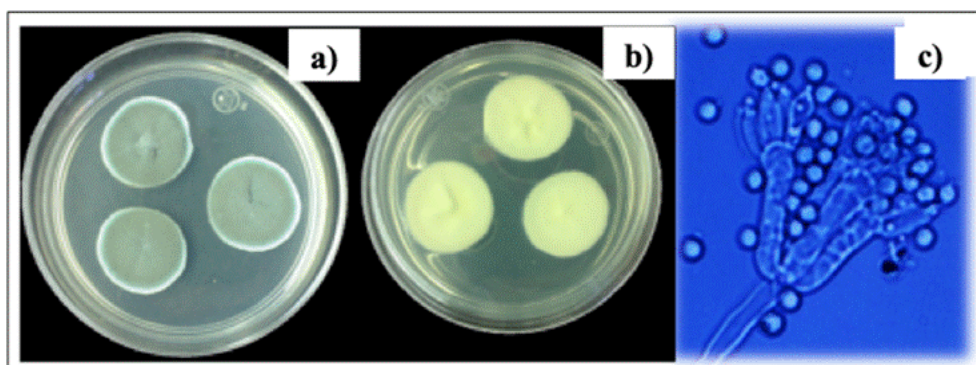


Figura 4.. Morfología de *Penicillium* spp. Estructura macroscópica: **a)** Anverso, **b)** Reverso y **c)** Estructura microscópica.

1.7 Eficacia de agentes de biocontrol contra *Fusarium*

El control biológico se ha consolidado como una alternativa sostenible para el manejo de enfermedades causadas por *Fusarium* spp., en el cultivo de tomate Cherry, debido a que reduce la dependencia de fungicidas sintéticos y contribuye a mantener el equilibrio microbiológico del suelo. Entre los microorganismos con mayor potencial destacan las bacterias del género *Bacillus*, capaces de inhibir el crecimiento del patógeno mediante diversos mecanismos, como la producción de compuestos antimicrobianos (lipopeptidos, antibióticos y enzimas hidrolíticas), la competencia por nutrientes y espacio, la formación de biopelículas y la inducción de resistencia sistémica en las

plantas. Estas características permiten disminuir la incidencia de la marchitez por *Fusarium*, mejorar el desarrollo radicular y favorecer el crecimiento vegetativo del cultivo, constituyéndose en una herramienta fundamental dentro de los programas de manejo integrado de enfermedades (Karačić, 2024).

Por otra parte, diversas especies del género *Penicillium* han demostrado una importante capacidad antagonista frente a *Fusarium* spp., debido a que colonizan rápidamente la rizósfera, compiten eficazmente por los recursos disponibles y producen metabolitos secundarios con actividad antifúngica que limitan el crecimiento del patógeno. Además de su efecto directo sobre el hongo fitopatógeno, algunas especies de *Penicillium* actúan como hongos promotores del crecimiento vegetal, favoreciendo la absorción de nutrientes, la producción de fitohormonas y el fortalecimiento del sistema radicular. Estas propiedades incrementan la tolerancia de las plantas al estrés biótico y reducen la severidad de la enfermedad, contribuyendo a una producción más sostenible y con menor impacto ambiental (Attia, 2022).

La aplicación conjunta de microorganismos benéficos como *Bacillus* spp., y *Penicillium* spp., representa una estrategia promisorio para el manejo integrado de la fusariosis en tomate, ya que ambos agentes presentan mecanismos de acción complementarios. Mientras *Bacillus* produce metabolitos antibióticos e induce respuestas de defensa en la planta, *Penicillium* fortalece la microbiota del suelo y ejerce un efecto antagonista directo sobre *Fusarium*. Investigaciones recientes indican que la utilización de agentes biológicos puede disminuir significativamente la incidencia y severidad de la enfermedad, además de mejorar el rendimiento y la calidad de los frutos, convirtiéndose en una alternativa compatible con los sistemas de producción agrícola sostenible y con las exigencias de una agricultura de menor impacto ambiental (Attia, 2022; Karačić, 2024).

CAPITULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Caracterización del área de estudio

La presente propuesta se desarrolló en laboratorio de Centro de Investigaciones Biotecnológicas (CEB-UPSE) bajo condiciones controladas, situada en el cantón La Libertad, provincia de Santa Elena, ubicación geográfica de 2°13'55.83" latitud sur y 80°52'33.30" de longitud oeste, con el objetivo de evaluar la eficacia biocontroladora de dos cepas biocontroladoras, obtenidas de la colección de cepas del CEB-UPSE frente a *Fusarium*, en las primeras etapas fenológicas del tomate Cherry (*Solanum lycopersicum* var. *Cerasiforme*).



Figura 5. Vista satelital de la ubicación del CEB-UPSE.

2.2 Materiales, equipos y reactivos

2.2.1 Material biológico

- Semillas de tomate Cherry comerciales.
- Cepas de *B. subtilis* (Colección de microorganismos CEB-UPSE)
- Cepas de *Fusarium* sp., y *Penicillium* sp.

2.2.2 Material de laboratorio

- Agua destilada
- Cajas Petri
- Asas de platino
- Mechero Bunsen
- Matraz
- Probetas
- Alcohol al 70 %

- Marcador
- Cinta Parafilm
- Tijeras
- Guantes
- Calibrador Vernier

2.2.3 Equipos de laboratorio

- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadora
- Balanza analítica
- Incubadora
- Microscopio
- Espectrofotómetro

2.2.4 Reactivos para medios de cultivo

- Reactivo LMA
- Reactivo PDA

2.3 Tipo de investigación

El método de investigación empleado fue experimental, lo que implica un enfoque cuantitativo; este tipo de investigación habitualmente se vincula con la recolección y análisis de datos numéricos para establecer relaciones de causa y efecto entre variables.

La investigación experimental comprende un conjunto estructurado de procedimientos y técnicas que se llevan a cabo con el fin de recolectar la información y los datos necesarios acerca del tema de estudio y del problema que se busca resolver (Hernandez et al., 2014).

2.4 Diseño de investigación

Con el propósito de evaluar el impacto del biocontrol cepa bacteriana y fúngica en la germinación del tomate Cherry, se empleó un diseño completamente al azar (DCA). Este diseño es el más adecuado en condiciones de laboratorio porque todas las unidades experimentales se consideran homogéneas, ya que se mantienen bajo un mismo ambiente

controlado de temperatura, humedad, iluminación y manejo; por lo tanto, la variabilidad externa es mínima (Montgomery, 2017).

2.5 Diseño experimental

En las tablas 2 y 3 se presentan las fuentes de variación y los tratamientos detallados en esta propuesta investigativa.

Tabla 2. Diseño experimental

Fuentes de variación	Fórmula	Grados de libertad
Tratamientos	$t - 1$	5
Error experimental	$t * (r - 1)$	18
Total	$(t * r) - 1$	23

*t = número de tratamientos (6). *r = número de repeticiones (4)

2.5.1 Detalles de tratamientos

Tabla 3. Detalles de los tratamientos

Tratamientos	Formulación
T1	<i>Fusarium</i> sp.
T2	<i>Fusarium</i> sp. + <i>Bacillus subtilis</i>
T3	<i>Fusarium</i> sp. + <i>Penicillium</i> sp.
T4	<i>Fusarium</i> sp. + <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Penicillium</i> sp.
T5	<i>Fusarium</i> sp. + Control Químico
T6	Sin inoculación

2.6 Manejo del experimento

2.6.1 Reactivación y preparación de cepas

La cepa bacteriana se reactivó en Agar Levadura Manitol (LMA) durante un período de tres días en la incubadora. Posteriormente, fueron inoculadas en 150 ml de Caldo Levadura Manitol (LMC) y cultivadas a 28 °C por dos días más en la incubadora, hasta alcanzar una densidad óptica de 0.5 y una concentración de 10^6 UFC/ml. Medida en el espectrofotómetro y contrastada por conteo en caja Petri.

En cuanto a la cepa de *Fusarium* sp., y *Penicillium* sp., estas fueron reactivadas en medio Agar Papa Dextrosa (PDA) para luego estar en la incubadora por 5 días a 25 °C. Una vez reactivadas y perfectamente purificadas se le añadieron 10 ml de agua destilada estéril y con ayuda de un isopo estéril se raspó suavemente la superficie de la colonia para desprender los conidios, luego esta suspensión obtenida se filtró para pasar a un tubo de ensayo estéril con el objetivo de eliminar fragmentos de micelio. Finalmente, se cuantificaron con ayuda de una cámara de Neubauer y hasta obtener la concentración de 10^8 conidios/ml.

2.6.2 Preparación de cajas Petri

La preparación de las cajas Petri se realizó dentro de una cámara de flujo laminar, en condiciones de asepsia. Antes de iniciar el procedimiento, el material de laboratorio fue esterilizado para minimizar el riesgo de contaminación. Posteriormente, se colocó en el fondo de cada caja Petri un disco de papel absorbente estéril, el cual actuó como sustrato para mantener la humedad necesaria durante la germinación de las semillas. Finalmente, las semillas se distribuyeron uniformemente sobre el papel absorbente estéril, hasta la manipulación e inoculación de los microorganismos.

2.6.3 Inoculación de las cepas a las semillas

- Preparación: Las semillas de tomate destinadas a los tratamientos pasaron por protocolos de desinfección con cloro y alcohol al 1% por 1 minuto, en ambos casos. Así como también por lavados con agua destilada para una óptima desinfección de la semilla. Luego se añadieron 20 semillas en cada caja Petri, inoculando el microorganismo correspondiente a cada caja Petri según los tratamientos.
- Inoculación: Luego de la preparación de semillas se realizó la inoculación con 10 uL de caldo con una concentración de *Fursaium* sp., y *Penicillium* sp., de 10^8 conidios/ml. Para *Bacillus subtilis* se inoculó con una concentración de 10^6 UFC/ml a cada una de las semillas y posteriormente a las plántulas a todos los tratamientos exceptuando el tratamiento sin inoculación. Se repitió el mismo proceso con la suspensión de conidios para *Penicillium* sp., inoculando los

tratamientos 3 y 4. En el caso de *Bacillus* se realizó lo mismo, pero con el caldo LMA de la bacteria, e incorporando los 10 uL a cada semilla en los tratamientos 2 y 4. Finalmente con el tratamiento 5 que fue con un control químico se aplicó igual volumen.

2.6.4 Frecuencia de riego:

La hidratación del sustrato de las cajas Petri y en la fase vivero se realizó mediante la aplicación de agua destilada para asegurar la humedad constante durante el proceso de germinación y crecimiento vegetal, evitando exceso de agua que podría favorecer el desarrollo de contaminantes.

2.7 Parámetros evaluados

En esta parte se detallan las variables que se tomaron en cuenta y cuantificaron para evaluar cómo influye la inoculación de la cepa bacteriana y fúngica en la inhibición del *Fusarium* sp., acorde a las concentraciones establecidas en este experimento para cada microorganismo.

2.7.1 Porcentaje de germinación

Se realizó el conteo de semillas germinadas en cada caja Petri, para cada tratamiento (Copeland, 2010). Se hizo los cálculos para el porcentaje con la siguiente ecuación:

$$\%Germinación = \frac{\text{número de semillas germinadas}}{\text{número de semillas}} \times 100\%$$

2.7.2 Daño en raíz

Se observó en las semillas germinadas, si presentó algún daño (Gutiérrez, 2020). Con el propósito de evaluar de manera objetiva la severidad del daño ocasionado por *Fusarium* spp., en el sistema radicular, se empleó una escala de severidad basada en los criterios propuestos por Quilambaqui-Jara (2004). Esta metodología permite clasificar el grado de afectación de las raíces de acuerdo con la presencia de lesiones, necrosis y pudrición, constituyendo una herramienta confiable para cuantificar la respuesta de las plantas frente a la infección del patógeno y la eficacia de los tratamientos de control biológico aplicados.

Tabla 4..Indicador de daño de raíz por (Quilambaqui-Jara, 2004)

Daño raíz	Sin daño	1
	Daño leve	2
	Daño moderado	3
	Daño Severo	4
	Daño muy severo	5

2.7.3 Porcentaje de severidad

Se tomó en cuenta el porcentaje de daño causado en las semillas, tomando diferentes rangos del 0 al 3 (Campbell, 2012). La severidad de la enfermedad se evaluó mediante una escala ordinal de cuatro categorías, la cual permite clasificar el grado de afectación observado en las plántulas de tomate acorde a la intensidad de los síntomas ocasionados por *Fusarium* spp. Este tipo de escalas facilita la cuantificación del progreso de la enfermedad y la comparación objetiva de la eficacia de los diferentes tratamientos de biocontrol, siendo una metodología ampliamente utilizada en estudios fitopatológicos (Madden, 2021).

Tabla 5.Indicador de severidad del patógeno por (Madden, 2021)

Escala	Descripción del daño	Porcentaje afectado
0	Sin daño	0
1	Daño leve	1 – 28 %
2	Daño moderado	29 – 59 %
3	Daño Severo	60 – 100 %

2.7.4 Incidencia del hongo patógeno

De igual manera como la severidad, se definió un rango y posteriormente se obtuvo un porcentaje de incidencia por cada tratamiento. La incidencia del patógeno en el cultivo de tomate se determinó mediante evaluaciones finales. Para ello se contabilizó el número total de semillas observados y el número de semillas germinadas con raíces que presenten síntomas característicos de la enfermedad identificada.

Según Fajardo (2017) la incidencia se expresa como porcentaje y se calculará mediante la siguiente fórmula:

$$Incidencia (\%) = \frac{\text{número de semillas afectados}}{\text{número de semillas observados}} \times 100$$

Los resultados se registraron por enfermedad identificada y permitieron determinar la frecuencia de aparición de cada patógeno durante el periodo de evaluación.

2.7.5 Longitud de raíz

Es un indicador del desarrollo del sistema radicular y de la capacidad de la planta para explorar el suelo, absorber agua y nutrientes, por lo que se utiliza ampliamente para evaluar el crecimiento y la respuesta a diferentes tratamientos agronómicos (Zhuang, 2021).

2.7.6 Longitud de tallo

Representa el crecimiento vegetativo y el vigor de la planta, siendo un parámetro que refleja la elongación celular y permite evaluar la respuesta del cultivo frente a factores ambientales y prácticas de manejo agronómico (Yu, 2021).

2.8 Análisis estadísticos de los resultados

Los datos obtenidos durante la investigación fueron procesados mediante el software InfoStat, utilizando un análisis de varianza (ANOVA) para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Cuando el ANOVA mostró diferencias estadísticas, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$, permitiendo identificar los tratamientos que presentaron diferencias entre sus medias.

Los resultados del análisis estadístico se presentan mediante tablas y figuras que incluyen los valores promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación y los valores de probabilidad (p), facilitando la interpretación del comportamiento de las variables evaluadas y la comparación objetiva entre los tratamientos experimentales.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Porcentaje de Germinación

Los resultados obtenidos evidenciaron diferencias en el porcentaje de germinación entre los tratamientos evaluados. El mayor porcentaje de germinación se registró en el tratamiento T6 (sin inoculación) con 86.3 %, lo que demuestra el adecuado potencial germinativo de las semillas en ausencia del patógeno. Entre los tratamientos inoculados con *Fusarium* sp., el T5 (*Fusarium* sp. + control químico) presentó el mayor porcentaje de germinación (73.8 %), seguido por el T2 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis*) con 71.8 %, mientras que T4 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis* + *Penicillium* sp.) y T3 (*Fusarium* sp. + *Penicillium* sp.) alcanzaron 61.8 % y 60.0 %, respectivamente. El menor porcentaje correspondió al T1 (*Fusarium* sp.) con 54.0 %, evidenciando que la presencia del patógeno afectó negativamente la germinación de las semillas (Tabla 6).

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Calvo y otros (2023), quienes señalaron que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, especialmente especies del género *Bacillus*, favorecen la germinación al producir fitohormonas, mejorar la disponibilidad de nutrientes y disminuir el efecto de microorganismos fitopatógenos presentes en el suelo. Así mismo, Chowdhury (2021) indica que, *B. subtilis* incrementa el porcentaje de germinación y el establecimiento de las plántulas mediante la producción de metabolitos bioactivos y la inhibición del crecimiento de hongos patógenos. En el presente estudio, el tratamiento con *B. subtilis* (T2) alcanzó un porcentaje de germinación cercano al obtenido con el control químico, lo que evidencia su probable potencial como alternativa biológica para favorecer el establecimiento inicial del cultivo de tomate.

Sin embargo, los resultados difieren parcialmente de los encontrados por Sahu (2022), quien reporta que especies de *Penicillium*, incrementaron significativamente la germinación y el vigor de las plántulas debido a su capacidad para producir compuestos promotores del crecimiento y ejercer antagonismo contra hongos fitopatógenos. En la presente investigación, el tratamiento con *Penicillium* sp., presentó un porcentaje de germinación inferior al observado con *B. subtilis* y el control químico. Esta diferencia podría atribuirse a la variabilidad entre cepas, la concentración del inóculo, la interacción con *Fusarium* sp., o las condiciones experimentales in vitro, factores que influyen directamente en la eficacia de los microorganismos utilizados como agentes de biocontrol.

Tabla 6. Resultados de germinación

Tratamientos	% Germinación
T1 (<i>Fusarium</i> sp.)	54.0
T2 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i>)	71.8
T3 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>Penicillium</i> sp.)	60.0
T4 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> sp.)	61.8
T5 (<i>Fusarium</i> sp. + control químico)	73.8
T6 (Sin inoculación)	86.3

3.2 Daño de raíz

El coeficiente de variación alto podría atribuirse a la variable propia de las semillas utilizadas, debido a que fueron de origen comercial y no certificadas, esta condición puede generar diferencias en la calidad incrementando la variabilidad experimental. El análisis de varianza evidenció diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados para la variable daño en raíz ($p < 0.0001$) indicando que la aplicación de los diferentes agentes de biocontrol y el control químico influyeron significativamente sobre la severidad del daño ocasionado por *Fusarium* sp. La prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha = 0.05$) mostró que el tratamiento T3 (*Fusarium* sp. + *Penicillium* sp.) presentó el mayor valor promedio de daño radicular (1.75), diferenciándose estadísticamente de los demás tratamientos (Tabla 7). En contraste, el T6 (sin inoculación) registró el menor daño (1.06), mientras que los tratamientos T2, T4 y T5 presentaron valores intermedios, reflejando una reducción parcial de la severidad causada por el patógeno. Estos resultados evidencian que la respuesta de los tratamientos fue diferente frente a la infección por *Fusarium* sp.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Karačić (2024), quien señala que especies del género *Bacillus* constituyen agentes eficaces para el control biológico de enfermedades del tomate, debido a la producción de lipopeptidos, enzimas hidrolíticas y metabolitos antifúngicos capaces de inhibir el crecimiento de *F. oxysporum*. En el presente estudio, el tratamiento con *Bacillus subtilis* (T2) mostró un menor daño radicular en comparación con el tratamiento que únicamente recibió *Penicillium* sp. (T1),

lo que podría sugerir una mayor capacidad antagonista de la bacteria frente al patógeno. Asimismo, la combinación (consorcio) de microorganismos (T4) permitió mantener niveles de daño inferiores a los observados con el género *Penicillium* sp., aplicado de forma individual, indicando que la interacción entre ambos agentes puede favorecer el control de la enfermedad.

Sin embargo, los resultados difieren parcialmente de los obtenidos por Attia (2022), quien reporta que algunas especies de *Penicillium* redujeron significativamente la incidencia de la marchitez por *Fusarium* al colonizar rápidamente la rizósfera y producir metabolitos con actividad antifúngica. En este trabajo, el tratamiento con *Penicillium* sp., presentó el mayor daño radicular, lo que podría atribuirse a diferencias entre cepas y/o concentración del inóculo. Estas variaciones han sido descritas por diversos autores, quienes indican que la eficacia del control biológico depende de factores como la compatibilidad entre el antagonista y el patógeno, las condiciones ambientales y el aislamiento empleado, por lo que es indispensable seleccionar cepas con elevada capacidad de antagonismo antes de su aplicación en programas de manejo integrado de enfermedades.

Tabla 7. Resultados de daño raíz

Tratamientos	NC	IDR
T1 (<i>Fusarium</i> sp.)	4	1.44 b
T2 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i>)	4	1.28 bcd
T3 (<i>Fusarium</i> sp + <i>Penicillium</i> sp.)	4	1.75 a
T4 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> sp.)	4	1.40 bc
T5 (<i>Fusarium</i> sp. + Control químico)	4	1.15 b
T6 (sin inoculación)	4	1.06 d
CV (%)		48.10
P <0.05		0.0001

*NC= Número de cajas Petri

*IDR=Índice de daño raíz

*CV (%) =Coeficiente de variación

* P >0.05

*abc= Letras iguales no difieren estadísticas

3.3 Porcentaje de severidad

El análisis de varianza reveló variaciones con una significancia muy alta entre los tratamientos para el índice de severidad (IS) ($p = 0.0001$), lo que demuestra que los

agentes de biocontrol tuvieron un impacto en la magnitud del daño que *Fusarium* sp., provocó en las plántulas de tomate Cherry. El tratamiento T1 (*Fusarium* sp.) mostró el índice de severidad más alto con un 32.28 %, lo que lo distingue estadísticamente de los demás tratamientos. En cambio, el tratamiento T6 (sin inoculación) mostró el valor más bajo (0.86 %). Los tratamientos T2 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis*), T3 (*Fusarium* sp. + *Penicillium* sp.), T4 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis* + *Penicillium* sp.) y T5 (control químico) tuvieron índices de severidad entre 7.15% y 7.97%, sin diferencias estadísticas entre ellos. La aplicación de los agentes de biocontrol redujo considerablemente la gravedad de la enfermedad en comparación con el tratamiento que fue inoculado solo con el patógeno, como evidencian estos resultados.

Los resultados presentados en la Tabla 8 son similares a los reportados por Tsolakidou (2024), quien evaluó diferentes productos comerciales de biocontrol para el manejo de la marchitez por *Fusarium* en tomate bajo condiciones de invernadero. El autor determinó que los tratamientos formulados con bacterias benéficas redujeron significativamente la severidad de la enfermedad y mejoraron el desarrollo de las plantas en comparación con el testigo inoculado. De igual manera, Karačić *et al.* (2024), indicaron que las especies del género *Bacillus* reducen la gravedad de patologías provocadas por *Fusarium* mediante la producción de lipopeptidos, metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas, alcanzando grados de control similares a los tratamientos químicos.

No obstante, los hallazgos son parcialmente distintos a los de Moreno *et al.* (2019), que determinaron que ciertas cepas de *Penicillium*, empleadas como agentes de biocontrol disminuyeron la gravedad de las enfermedades provocadas por *Fusarium*, en grados más altos que los constatados en esta investigación. La variabilidad genética de las cepas empleadas, la concentración del inóculo, el medio ambiente y el sistema experimental utilizado (ya sea en in vitro o en invernadero) son elementos que afectan directamente la capacidad de los microorganismos para ser antagonistas. No obstante, los resultados logrados corroboran que *B. subtilis* y un consorcio de microorganismos podrían ser opciones efectivas para reducir la gravedad de daño provocado por *Fusarium* sp., en plántulas de tomate Cherry.

Tabla 8. Severidad del patógeno

Tratamientos	NC	IS (%)
T1 (<i>Fusarium</i> sp.)	4	32.28 a
T2 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i>)	4	7.97 b
T3 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>Penicillium</i> sp.)	4	7.46 b
T4 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> sp.)	4	7.26 b
T5 (<i>Fusarium</i> sp. + Control químico)	4	7.15 b
T6 (sin inoculación)	4	0.86 b
P >0.05		0.0001

*NC= Número de cajas Petri

*IS=Índice de severidad

* P >0.05

*abc= Letras iguales no difieren estadísticas

3.4 Incidencia del patógeno

La incidencia del patógeno se evaluó mediante una escala basada en la presencia o ausencia de síntomas de infección por *Fusarium* sp., en las semillas de tomate, presentadas en la Tabla 9. Este indicador permite determinar la proporción de plantas afectadas durante el experimento y constituye uno de los parámetros epidemiológicos más utilizados para valorar la eficacia de tratamientos de control biológico y químico en enfermedades de plantas (Agrios, 2021).

Tabla 9. Indicador de incidencia de patógeno por (Agrios, 2021)

Incidencia de patógeno	Ausencia	1
	Presencia	2

La prueba de comparación de medias de Tukey evidenció que la mayoría de los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas entre sí, mientras que por otra parte el coeficiente de variación esta relacionada con la utilización de semillas comerciales y no certificadas, las cuales pueden presentar diferencias. La prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) indicó que el tratamiento T3 (*Fusarium* sp. + *Penicillium* sp.) presentó la mayor incidencia (1.10), diferenciándose estadísticamente del resto de tratamientos. Por el contrario, los tratamientos, T2 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis*), T4 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis* + *Penicillium* sp.), T5 (control químico) y T6 (sin inoculación) registraron valores entre 1.00 y 1.01, sin diferencias significativas entre ellos

(Tabla 10). Estos resultados evidencian que el tratamiento con *Penicillium* sp., no logró reducir la incidencia del patógeno bajo las condiciones del ensayo.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Rojas (2023), quienes señalaron que las bacterias del género *Bacillus* presentan una elevada capacidad para disminuir la incidencia de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos mediante mecanismos de antibiosis, competencia por nutrientes e inducción de resistencia sistémica en las plantas. De igual manera, Chowdhury (2021) indicaron que la aplicación de cepas de *Bacillus* en cultivos hortícolas reduce el establecimiento de patógenos del suelo y limita la propagación de enfermedades vasculares, contribuyendo a mantener una menor incidencia en comparación con tratamientos sin agentes de biocontrol. En la presente investigación, el tratamiento con *Bacillus subtilis* mostró una incidencia similar al control químico, lo que confirma su probable potencial como alternativa para el manejo de *Fusarium* sp.

Sin embargo, los resultados difieren de los encontrados por Sharma (2022), quienes reportaron que hongos antagonistas, entre ellos especies del género *Penicillium*, redujeron significativamente la incidencia de enfermedades causadas por *Fusarium* mediante la producción de metabolitos antifúngicos y la colonización de la rizósfera. En este estudio, el tratamiento con *Penicillium* sp., presentó la mayor incidencia del patógeno, situación que podría estar relacionada con diferencias en la cepa utilizada, la densidad del inóculo, las condiciones de crecimiento in vitro o la capacidad de adaptación del microorganismo al ambiente experimental. Estos factores pueden influir en la eficacia del biocontrol y explicar la variabilidad de los resultados obtenidos entre diferentes investigaciones.

Tabla 10. Incidencia del patógeno

Tratamientos	NC	IP
T1 (<i>Fusarium</i> sp.)	4	1.00 b
T2 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i>)	4	1.00 b
T3 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>Penicillium</i> sp.)	4	1.10 a
T4 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> sp.)	4	1.00 b
T5 (<i>Fusarium</i> sp. + Control químico)	4	1.01 b
T6 (sin inoculación)	4	1.00 b
CV (%)	12.90	

P <0.05	0.0001
*NC= Número de cajas Petri *IP=Incidencia del Patógeno *CV (%) =Coeficiente de variación * P >0.05 *abc= Letras iguales no difieren estadísticas.	

3.5 Longitud de raíz

Los resultados obtenidos para la variable longitud de raíz evidenciaron diferencias entre los tratamientos evaluados. El tratamiento T4 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis* + *Penicillium* sp.) presentó la mayor longitud de raíz 7.34 cm, seguido por T2 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis*) con 6.43 cm y T3 (*Fusarium* sp. + *Penicillium* sp.) con 5.96 cm. Por su parte, el tratamiento T6 (sin inoculación) alcanzó una longitud cercana a 5.8 cm, mientras que T5 (*Fusarium* sp. + control químico) obtuvo 5.54 cm. El menor desarrollo radicular correspondió al T1 (*Fusarium* sp.), con aproximadamente 4.8 cm, evidenciando el efecto negativo del patógeno sobre el crecimiento de las raíces. Estos resultados sugieren que la combinación de *B. subtilis* y *Penicillium* sp., produjo el mayor desarrollo radicular de las plántulas de tomate bajo las condiciones del ensayo.

Los resultados presentados en la Figura 6 son similares a los reportados por Backer (2022), quienes indicaron que las bacterias promotoras del crecimiento del género *Bacillus* estimulan el desarrollo del sistema radicular mediante la producción de fitohormonas, sideróforos y otros metabolitos que favorecen la absorción de agua y nutrientes. De igual manera, Olanrewaju y otros (2023), señalaron que la inoculación con microorganismos benéficos incrementa significativamente la longitud de las raíces y mejora el establecimiento inicial de las plantas, especialmente cuando se emplean consorcios microbianos. En la presente investigación, el tratamiento combinado con *B. subtilis* y *Penicillium* sp., presentó el mayor crecimiento radicular, lo que demuestra el efecto positivo de ambos microorganismos sobre el desarrollo de las plántulas.



Figura 6. Resultados de las longitudes de raíces

3.6 Longitud del tallo

Los resultados obtenidos para la variable longitud del tallo mostraron diferencias entre los tratamientos evaluados. El tratamiento T3 (*Fusarium* sp. + *Penicillium* sp.) presentó la mayor longitud del tallo con 9.54 cm, seguido por el T4 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis* + *Penicillium* sp.) con 8.71 cm y el T5 (*Fusarium* sp. + control químico) con 8.24 cm. Por su parte, el tratamiento T6 (sin inoculación) alcanzó una longitud cercana a 7.1 cm, mientras que T2 (*Fusarium* sp. + *Bacillus subtilis*) registró aproximadamente 6.5 cm. El menor crecimiento del tallo correspondió al T1 (*Fusarium* sp.), con alrededor de 6.02 cm, lo que evidencia el efecto negativo del patógeno sobre el desarrollo vegetativo de las plántulas. Estos resultados sugieren que la aplicación de *Penicillium* sp., tanto de forma individual como en combinación con *B. subtilis*, favoreció el crecimiento del tallo en comparación con el tratamiento inoculado únicamente con *Fusarium* sp.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Basu *et al.* (2021), quienes señalaron que los microorganismos promotores del crecimiento vegetal incrementan el desarrollo del tallo mediante la producción de fitohormonas, la solubilización de nutrientes y la mejora en la absorción de agua. Asimismo, Santoyo y demás (2021), indicaron que microorganismos benéficos como *Bacillus* y hongos antagonistas favorecen el crecimiento vegetativo al estimular procesos fisiológicos relacionados con la elongación celular y la nutrición mineral de las plantas. En la presente investigación, los tratamientos que incluyeron agentes de biocontrol presentaron una mayor longitud del tallo respecto al tratamiento inoculado únicamente con *Fusarium* sp., evidenciando el efecto positivo de estos microorganismos sobre el crecimiento de las plántulas (Figura 7).

Sin embargo, los resultados difieren parcialmente de los reportados por Rouphael y Colla (2020), quienes mencionan que la respuesta de las plantas a los microorganismos benéficos puede variar dependiendo de la especie vegetal, las características del suelo, las condiciones ambientales y la interacción entre el microorganismo y el hospedero. En este estudio, el tratamiento con *Penicillium* sp., presentó el mayor crecimiento del tallo, mientras que otros trabajos han encontrado respuestas similares entre diferentes agentes de biocontrol. Estas diferencias pueden atribuirse a la variabilidad entre cepas, la

concentración del inóculo y las condiciones de cultivo *in vitro*, factores que influyen en la eficacia de los microorganismos para promover el crecimiento vegetal.

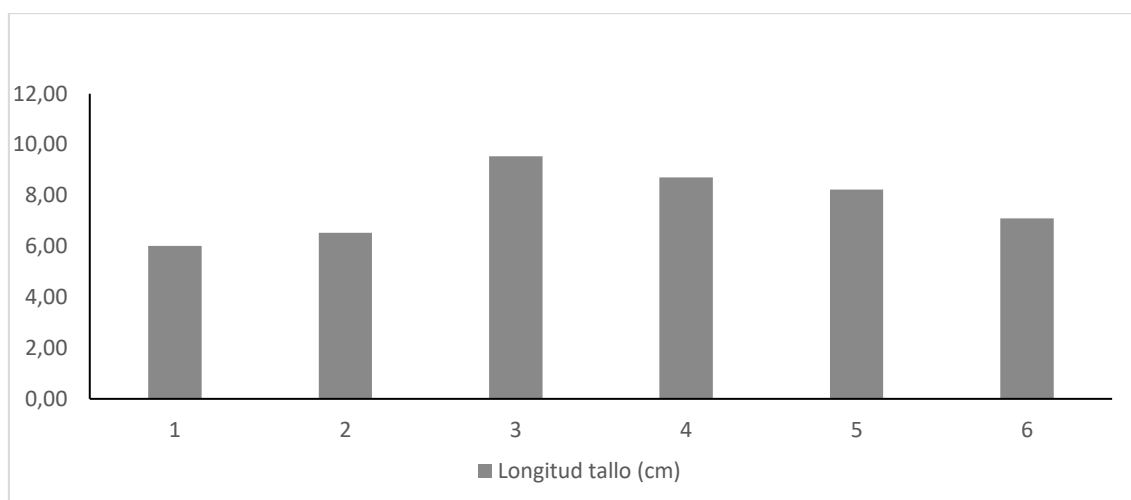


Figura 7. Resultados de la longitud de tallos en los diferentes tratamientos

3.7 Daño de raíz en vivero

El análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos para el índice de daño de raíz, con un coeficiente de variación de 35.45 %, lo que evidencia una variabilidad experimental moderada-alta, posiblemente asociada con la respuesta heterogénea de las plántulas frente a la inoculación para esta variable. La prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) evidenció que el tratamiento T1 (*Fusarium* sp.) presentó el mayor índice de daño, diferenciándose estadísticamente de los demás tratamientos. El tratamiento T3 (*Fusarium* sp. + *Penicillium* sp.) presentó un valor intermedio, sin diferencias significativas respecto a los demás tratamientos con menor índice de daño de raíz. Estos resultados indican que la inoculación exclusiva con *Fusarium* sp., ocasionó un mayor nivel de daño en las plántulas, mientras que la aplicación de *B. subtilis*, tanto de forma individual como en combinación con *Penicillium* sp., redujo los efectos del patógeno (Tabla 11).

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Mousa *et al.* (2021), quienes señalaron que las bacterias del género *Bacillus* disminuyen los síntomas de daño de raíz ocasionados por hongos fitopatógenos mediante la producción de compuestos antifúngicos, enzimas hidrolíticas y la inducción de mecanismos de defensa en las plantas. Asimismo, Aloo (2022), indicó que la utilización de microorganismos promotores del crecimiento vegetal contribuye a reducir el estrés causado por patógenos del suelo,

favoreciendo el desarrollo de las plántulas y disminuyendo la intensidad de los síntomas. En la presente investigación, los tratamientos que incluyeron *B. subtilis* presentaron índices de daño de raíz significativamente menores que el tratamiento inoculado únicamente con *Fusarium* sp., lo que confirma su efecto protector frente al patógeno.

Sin embargo, los resultados difieren parcialmente de los reportados por Mishra *et al.* (2023), quienes encontraron que la aplicación conjunta de bacterias y hongos antagonistas produjo una reducción superior al daño de raíz respecto a la aplicación individual de cada microorganismo. En este estudio, aunque el tratamiento combinado de *B. subtilis* y *Penicillium* sp., redujo el índice de daño de raíz, su comportamiento fue similar al de *B. subtilis* aplicado de forma individual. Estas diferencias podrían atribuirse a la compatibilidad entre las cepas utilizadas, la concentración del inóculo, el tiempo de interacción entre los microorganismos y las condiciones del ensayo in vitro, factores que influyen directamente en la eficacia del control biológico.

Tabla 11. Daño de raíz en la etapa de vivero

Tratamientos	NP	IDR
T1 (<i>Fusarium</i> sp.)	12	2.00 a
T2 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i>)	12	1.33 b
T3 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>Penicillium</i> sp.)	12	1.50 ab
T4 (<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i> + <i>Penicillium</i> sp.)	12	1.33 b
T5 (<i>Fusarium</i> sp. + Control químico)	12	1.33 b
T6 (sin inoculación)	12	1.00 b
CV (%)		35.45
P <0.05		0.0002

*NP= Número de plantas

*IP=Incidencia de daño de raíz

*CV (%) =Coeficiente de variación

* P >0.05

*abc= Letras iguales no difieren estadísticas

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Bajo condiciones *in vitro*, los tratamientos evaluados presentaron diferencias significativas en la respuesta de las plántulas de tomate Cherry frente a *Fusarium* sp. ($p = 0.0002$), evidenciando un efecto diferencial de los microorganismos antagonistas sobre la incidencia y el daño radicular.

Bacillus subtilis fue el tratamiento biológico con mejor desempeño, al reducir el índice de daño radicular de 2.00 en las plántulas inoculadas únicamente con *Fusarium* sp. a 1.33, valor estadísticamente comparable con el control químico. Asimismo, presentó menores valores de incidencia y severidad y favoreció el desarrollo radicular de las plántulas.

B. subtilis incrementó el porcentaje de germinación hasta 71.8 %, frente al 54.0 % registrado en el tratamiento inoculado únicamente con *Fusarium* sp., lo que evidencia un efecto favorable sobre el establecimiento inicial de las plántulas. Este comportamiento es consistente con estudios que han reportado capacidad de *B. subtilis* para estimular la germinación y el crecimiento de plántulas de tomate, además de ejercer actividad antagonista frente a especies de *Fusarium*.

Penicillium sp., mostró actividad antagonista frente a *Fusarium* sp.; sin embargo, su respuesta fue menos consistente entre las variables evaluadas. La combinación de *B. subtilis* + *Penicillium* sp., favoreció determinadas variables de crecimiento, particularmente el desarrollo radicular, pero no superó de manera consistente el desempeño de *B. subtilis* aplicado individualmente.

En conjunto, los resultados indican que *Bacillus subtilis* constituye el microorganismo con mayor potencial de biocontrol frente a *Fusarium* sp., entre los tratamientos evaluados, bajo las condiciones experimentales establecidas. Su eficacia coincide con estudios que han demostrado la capacidad de cepas de *B. subtilis* para disminuir la incidencia y severidad de enfermedades causadas por *Fusarium* sp., en tomate.

Recomendaciones

Con el objetivo de corroborar la efectividad observada *in vitro* para disminuir la incidencia de *Fusarium* sp., y formular sugerencias técnicas para su inclusión en proyectos de gestión integrada del cultivo de tomate Cherry, se debe validar el uso de *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., tanto en condiciones de campo como en invernadero.

Para determinar los microorganismos con más capacidad de antagonismo frente a *Fusarium* sp. y mejorar su utilización como agentes de biocontrol, es necesario analizar una mayor cantidad de cepas nativas y comerciales de *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., así como distintas concentraciones y frecuencias de aplicación.

Con el objetivo de entender cómo *Bacillus subtilis* y *Penicillium* sp., actúan en contra de *Fusarium* sp., llevar a cabo estudios adicionales que involucren la evaluación de mecanismos de antagonismo, incluyendo la producción de metabolitos antifúngicos, enzimas hidrolíticas, compuestos volátiles e inducción de resistencia en las plantas.

Para reforzar la selección de microorganismos para el manejo sostenible de *Fusarium* sp., en los cultivos de tomate Cherry, se necesita realizar investigaciones que analicen el porcentaje de inhibición de varios agentes de biocontrol con diferentes consorcios microbianos con variables paramétricas y no paramétricas, así como también la persistencia, colonización y efectividad a largo plazo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. 2021. *Plant Pathology (6th ed., reimpresión)*. Academic Press (Elsevier).
Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/book/9780120445653/plant-pathology>
- Aloo, B. 2022. *The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability*. Microbiological Research, 261, 127055. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127055>
- Amer, M., Hashem, A., Al-askar, A., Marey, S., Mohamed, T., Zaki, A. 2023. *Biocontrol de la enfermedad del marchitamiento por Fusarium en plantas de pimiento mediante Penicillium expansum y Trichoderma harzianum, promotores del crecimiento vegetal*. doi:<https://doi.org/10.15835/nbha51313302>
- Attia, M 2022. *Plant Growth-Promoting Fungi as Biocontrol Tool against Fusarium Wilt Disease of Tomato Plant*. Journal of Fungi. doi:<https://doi.org/10.3390/jof8080775>
- Aydi , J.2018. *Tomato-Associated Endophytic Bacteria with Fusarium Wilt Suppression*. Volos, Grecia.: Departamento de Bioquímica y Biotecnología, Universidad de Tesalia, Grecia.
- Backer, R. 2022. *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture*. Frontiers in Plant Science, 13, 849150. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.849150>
- Basu, A. 2021. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints and Prospects*. Sustainability, 13(3), 1140. doi:<https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Berg, G. 2017. *Plant microbial diversity is suggested as the key to plant health*. FEMS Microbiology Ecology. doi:<https://doi.org/10.1093/femsec/fix050>
- Brooke , 2012. *Stenotrophomonas maltophilia: an emerging global opportunistic pathogen*. Clinical Microbiology Reviews. doi:10.1128/CMR.00019-11
- Calvo, P. 2023. *Agricultural uses of plant biostimulants and beneficial bacteria for sustainable crop production: A review*. Frontiers in Plant Science, 14, 1178456. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1178456>
- Camacho, M. 2017. *Fisiología reproductiva del tomate cherry y su relación con la producción en ambientes protegidos* . Revista Agronomía Tropical, 67(2), 145-153.
- Campbell, C. 2012. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. Wiley-Interscience.
- Chowdhury, S. 2021. *Biocontrol mechanism by root-associated Bacillus species against plant pathogens*. Frontiers in Microbiology, 12, 698512. Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.698512>
- Copeland, L. 2010. *Principles of seed science and technology (4th ed.)*.
- Dávila, D. 2012. *Manual de Microbiología Agrícola*. Universidad Nacial Agraria Molina.
- Dean, R. 2022. *he Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology: Current status and future perspectives*. Molecular Plant Pathology, 23(1), 3–29. Obtenido de <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/journal/13643703>
- Delgado-Torres, N. 2022. *Bacillus subtilis como promotor de crecimiento en el cultivo de café (Coffea arabica)*. Amazónica de Ciencias Ambientales y Ecológicas, 1 - 9.

- Dita, M. 2021. *Fusarium wilts of banana and other crops: epidemiology and integrated disease management*. Plant Pathology, 70(6), 1201–1218. Obtenido de <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/journal/13653059>
- Dom, W., Shahrajabian, M. & Guan, L. 2025. *El potencial de biocontrol y promoción del crecimiento de Penicillium spp. y Trichoderma spp. en la agricultura sostenible*. MDPI. doi:<https://doi.org/10.3390/plantas14132007>
- Ecuador., M. 2022. *Panorama agroproductivo del Ecuador*. Obtenido de <https://www.agricultura.gob.ec>
- Flores-Triviño, S., Gutiérrez-Ferman, J., & Mendoza-Olazarán, S. 2019. *Stenotrophomonas maltophilia biofilm: formation, structure, and role in disease*. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. doi:10.3389/fcimb.2019.00273
- Gordon, T. 2022. *Fusarium oxysporum and the Fusarium wilt syndrome*. Annual Review of Phytopathology, 60, 181–200. Obtenido de <https://www.annualreviews.org/journal/phyto>
- Guo, X. 2021. *Fertilizer and pesticide reduction in cherry tomato production to achieve multiple environmental benefits in Guangxi, China*. Science of the Total Environment, 793, 148527. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148527>
- Gutiérrez, L. 2020. *Calidad fisiológica y sanitaria de semillas hortícolas bajo condiciones de laboratorio*. Universidad Nacional Agraria La Molina. Obtenido de <https://repositorio.lamolina.edu.pe>
- Han, Z. , Wang, J., Ding, Y., Wang, Y., & Yang, L. 2023. *Nueva observación en el biocontrol de Penicillium caperatum contra Fusarium oxysporum en Saposchnikovia divaricata y como promotor del crecimiento vegetal*. doi:<https://doi.org/10.3390/fermentación9040361>
- Hanelt, P. 2001. *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops*. Springer. Obtenido de https://books.google.com.pe/books/about/Mansfeld_s_Encyclopedia_of_Agricultural.html?id=10IMFSavIMsC&redir_esc=y
- Hernandez Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. 2014. *Metodología de la investigación (6ª ed.)*. McGraw-Hill.
- Higgins , D., & Dworkin , J. 2012. *Recent progress in Bacillus subtilis sporulation*. FEMS Microbiology Reviews.
- infoagronomo. 2023. *Fenología del cultivo de tomate*. Obtenido de <https://infoagronomo.net/fenologia-del-tomate/>
- Jun, W., Dmitri, M., Jiasui, L., Suhelen , E., Huanhuan, Z., Yang, L., & Olga, M. 2025. *Stenotrophomonas maltophilia impide el biocontrol de Bacillus de la enfermedad del marchitamiento del tomate al degradar sus antibióticos lipopeptídicos*. doi:10.1093/ismejo/wraf210
- Karačić, V. M. 2024. *Bacillus Species: Excellent Biocontrol Agents against Tomato Diseases*. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms12030457>
- Leoro, I. 2021. *TOLERANCIA A Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici EN HÍBRIDOS DE TOMATE (Solanum lycopersicum Mill.) INJERTADOS EN PATRONES DE SOLANACEAS . UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR SISTEMA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR .*
- Madden, L. 2021. *The Study of Plant Disease Epidemics (2nd ed.)*. APS Press. Obtenido de <https://apsjournals.apsnet.org/page/shop/the-study-of-plant-disease-epidemic>
- Manjarres Melo, J. 2021. *Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Against Phytopathogenic Fungi Isolated from Cherry Tomato (Solanum lycopersicum var. cerasiforme)*. Current Microbiology, 78(4), 1399–1408. doi:<https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>

- María Villareal, E. 2018. *El género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola*. Obregón, Sonora, México: Revista Mexicana de Fitopatología.
- Márquez-Zambrano, B. 2023. *Sistema de producción sustentable de tomates cherry (Solanum lycopersicum var. cerasiforme): riego permanente y cultivo alternativo*. Revista Científica Multidisciplinar.
- Martha Rodríguez, M. 2020. Cepas nativas de *Bacillus* spp. como una alternativa sostenible en el rendimiento de forraje de maíz. *Terra Latinoamericana*, 313-321.
- Mata-Nicolás, E. 2020. *Domestication and diversification of cherry tomatoes: Insights from genome-wide data*. *Frontiers in Plant Science*, 11, 554354.
- Méndez Reyes, J. 2026. *Identificación de hongos fitopatógenos en fincas productoras de tomate (Solanum lycopersicum L.) en la provincia de Santa Elena*. Trabajo de titulación, Universidad Estatal Península de Santa Elena. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/items/f0a73977-da68-4cd4-b463-4d8338f78e5f>
- Michielse, C. 2022. *Pathogen profile update: Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 23(7), 1001–. doi: <https://doi.org/10.1111/mpp.13232>
- Mileidy Cruz, L. 2021. Actividad antifúngica de *Bacillus amyloliquefaciens* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense raza. *Agronomía Mesoamericana*, 466-478.
- Miles Denton, K. 2010. *Aspectos microbiológicos y clínicos de la infección asociada con Stenotrophomonas maltophilia*. Leeds, Inglaterra: National Center for Biotechnology Information.
- Mishra, J. 2023. *Microbial consortia as sustainable biocontrol agents for management of soil-borne plant pathogens*. *Journal of Applied Microbiology*, 134(2), 1x4018. doi: <https://doi.org/10.1093/jambio/1x4018>
- Montgomery, D 2017. *Design and analysis of experiments (9th ed.)*. John Wiley & Sons.
- Morales-Cedeño, L. 2021. *Plant growth-promoting fungal endophytes as biocontrol agents: Mechanisms, challenges and opportunities*. *Journal of Fungi*, 7(10), 845. doi: <https://doi.org/10.3390/jof7100845>
- Moreno-Velandia, C. 2019. *Biological control of Fusarium wilt through antagonistic fungi and bacteria: advances and perspectives*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(3), 8927–8938. doi: <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.76418>
- Mousa, W. 2021. *Beneficial microbes for disease suppression and sustainable agriculture*. *Microorganisms*, 9(11), 2298. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112298>
- Niemec, B., Grudniak, A., & Markowska, K. 2024. *Unraveling the complexity of Stenotrophomonas maltophilia - a comprehensive review*. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*. doi:10.24
- Nutter, F. 2006. *The role of plant disease epidemiology in developing successful integrated disease management programs*.
- Olanrewaju, O. 2023. *Mechanisms of action of plant growth-promoting bacteria in enhancing root development and crop productivity*. *Microbiological Research*, 266, 127252. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127252>
- Oliveira-Garcia, D. 2003. *Fimbriae and adherence of Stenotrophomonas maltophilia to epithelial cells and to abiotic surfaces*. *Cellular Microbiology*.
- Ortega Cuenca, M. 2024. *Evaluación in vitro de cepas de Bacillus spp., en el control de Fusarium oxysporum*. Quito, Ecuador : Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana.

- Osama Mahidi, B. 2015. *Stenotrophomonas maltophilia* : cultivo y mantenimiento en laboratorio. Fargo, Estados Unidos: National Center for Biotechnology Information.
- Ploetz, R. 2023. *Management of Fusarium wilts: A review of current strategies and future perspectives*. Plant Disease, 107(6), 1603–1618. Obtenido de <https://apsjournals.apsnet.org/journal/pdis>
- Ploetz, R. 2021. *Prevention and management of Fusarium wilt diseases in horticultural crops*. Plant Disease, 105(11), 3249–3265. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-21-0612-FE>
- Quilambaqui-Jara, M. 2004. *Patogenicidad de tres especies de Fusarium asociadas con el declinamiento del espárrago (Asparagus officinalis L.) en Guanajuato, México*. Revista Mexicana de Fitopatología. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/612/61222105.pdf>
- Requena, E., Alonso, L., Veloso, J., & Villarino, M. 2023. *El análisis comparativo de los genomas de Penicillium revela la ausencia de una base genética específica para el biocontrol en la cepa 212 de Penicillium rubens*. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1075327>
- Reyes, S. 2019. *Biocontrol del marchitamiento vascular del frijol, causado por Fusarium oxysporum empleando Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal PGPR*. Santa Elena: La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena. Obtenido de <https://www.revistas.upse.edu.ec/index.php/rctu/article/view/445/361>
- Reyes, B., & Rudy, G. 2017. *Estudio agro socioeconómico de la producción de tomate (lycopersicum esculentum mill) en la zona norte de la provincia de Santa Elena*. La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2017. Obtenido de <http://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/3957>
- Rodríguez, A. 2019. *Manejo fisiológico del tomate cherry en sistemas intensivos de producción*. Ciencia y Agricultura, 16(3), 223-230.
- Rodriguez, M. 2022. *Evaluación de un consorcio microbiano para el control de Fusarium spp. sobre el desarrollo del cultivo de tomate (Solanum lycopersicum) en condiciones de invernadero*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/64178>
- Rojas-Solis, D. 2023. *Bacillus spp. as biological control agents for sustainable agriculture: Current status and future perspectives*. Microbiological Research, 276, 127489. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127489>
- Rouphael, Y. 2020. *Biostimulants in Agriculture*. Frontiers in Plant Science, 11, 40. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
- Sahu, P. 2022. *Endophytic fungi as plant growth promoters and biological control agents: Recent advances*. Journal of Fungi, 8(9), 931. doi:<https://doi.org/10.3390/jof8090931>
- Sánchez, L. 2023. *IDENTIFICACIÓN DE FACTORES DE VIRULENCIA EN Stenotrophomonas maltophilia DE ORIGEN AMBIENTAL*. ciudad de Puebla, México: BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA.
- Santoyo, G. 2021. *Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia*. Agronomy, 11(2), 219. doi:<https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>
- Sharma, A. 2022. *Fungal biocontrol agents against Fusarium wilt: Current status and future prospects*. Journal of Fungi, 8(11), 1165. doi:<https://doi.org/10.3390/jof8111165>
- Song, Z., Sun, J., Xu, S., Li, G., Yuan, M., & Zhou, K. 2023. *Metabolitos secundarios del hongo endófito Fusarium decemcellulare F25 y sus actividades antifúngicas*. Portada. Microbiol. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1127971>

- Tsolakidou, M. 2024. *Efficacy of Commercial Biocontrol Products for the Management of Verticillium and Fusarium Wilt in Greenhouse Tomatoes: Impact on Disease Severity, Fruit Yield, and Quality*. Agriculture, 14(6), 882. doi:<https://doi.org/10.3390/agriculture14060882>
- Valle Rón, G. 2025. *Biocontrol de Fusarium sp. en el cultivo de tomate aplicando Trichoderma harzianum en condiciones controladas*. Obtenido de <https://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/80013>
- Valle, M., Long, N, Jany, J., Koullen, L., Vasseur, V., Huchet, V., & Coroller, L. 2023. *Impacto del cloruro de sodio y dióxido de carbono en la germinación de conidios y el crecimiento radial de Penicillium camemberti*. doi:10.1016/j.fm.2023.104309
- Vlamakis, H., Aguilar, C., Losick, R., & Kolter, R. 2013. *Control of cell fate by the formation of an architecturally complex bacterial community*. doi:10.1038/gad.219923.113
- Win, T., Bo, B., Malec, P., & Fu, P. 2021. *El efecto de un consorcio de Penicillium sp. y Bacillus spp. en la supresión de enfermedades fúngicas del banano causadas por Fusarium sp. y Alternaria sp.* Journal of Applied Microbiology. doi:<https://doi.org/10.1111/jam.15067>
- Yu, K. 2021. *High planting density induces the expression of GA3-oxidase in leaves and GA-mediated stem elongation in bioenergy sorghum*. Scientific Reports, 11, 46. doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-020-79975-8>
- Yul, J., Han, S., Hong, H.-J., Cho, H., Kwak, Y.-S., & otros. 2016. *Base microbiana y bioquímica de un suelo supresor del marchitamiento por Fusarium*. doi:<https://doi.org/10.1038/ismej.2015.95>
- Zambrano Marquez, B., Prado Carpio, E., Garzón Montealegre, V., & Carvajal Romero, H. 2023. *Sistema de producción sustentable de tomates cherry*. Obtenido de https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.5093
- Zhou , Y., Cao, Q., & Wang , Z. 2022. *Mechanisms underlying spore germination of Bacillus subtilis: insights form molecular biology and biochemistry* . Frontiers in Microbiology .
- Zhuang, M. 2021. *The wheat SHORT ROOT LENGTH 1 gene TaSRL1 controls root length in an auxin-dependent pathway*. Journal of Experimental Botany, 72(20), 6977–6989. doi:<https://doi.org/10.1093/jxb/erab357>

ANEXOS



FIGURA A1. Purificación de hongos a utilizar

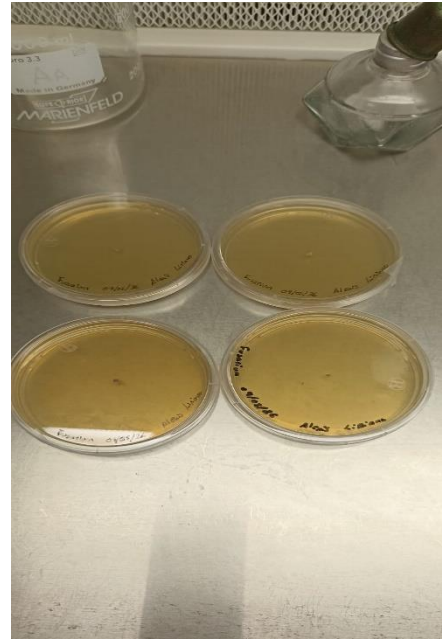


FIGURA A2. Caja Petri con los hongos



*FIGURA A3. Hongos a utilizar: *Fusarium* sp., y *Penicillium* sp.*

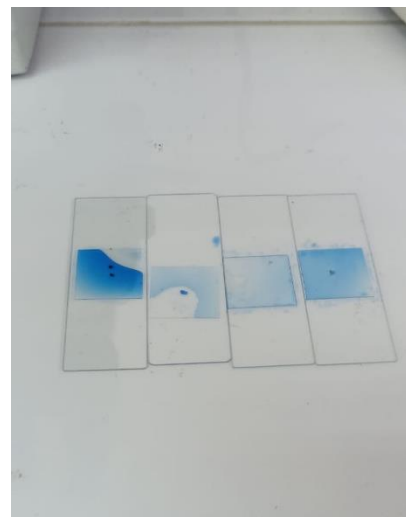


FIGURA A4. Observación e identificación microscópica mediante la técnica de montaje con azul de lactofenol.



FIGURA A5. Microscopio

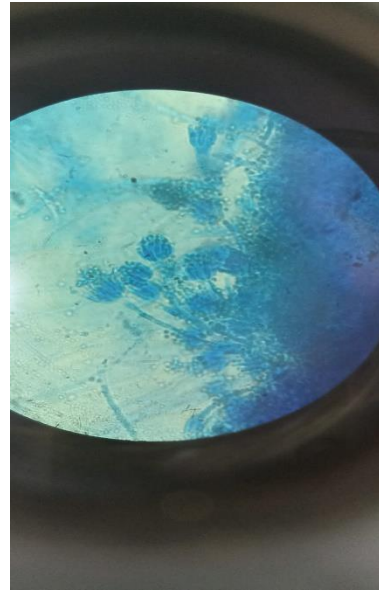


FIGURA A6. Penicillium sp.

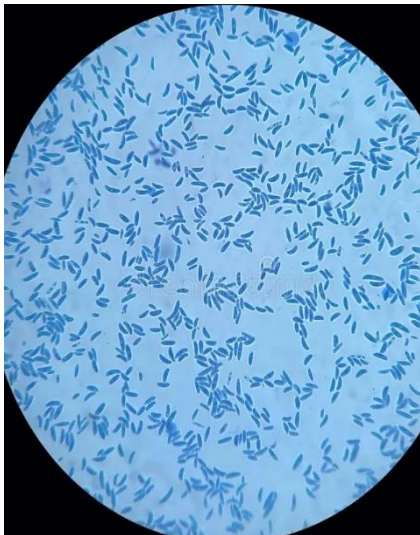


FIGURA A7. Fusarium sp.

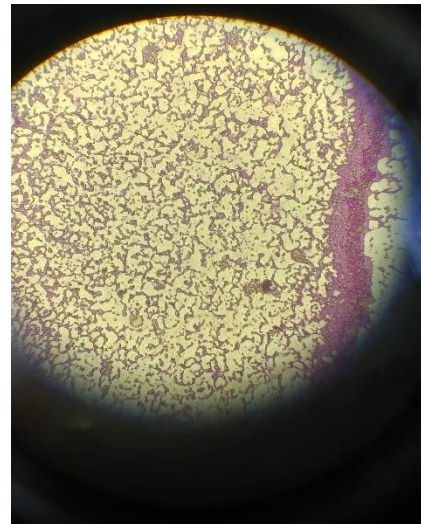


FIGURA A8. Bacillus subtilis

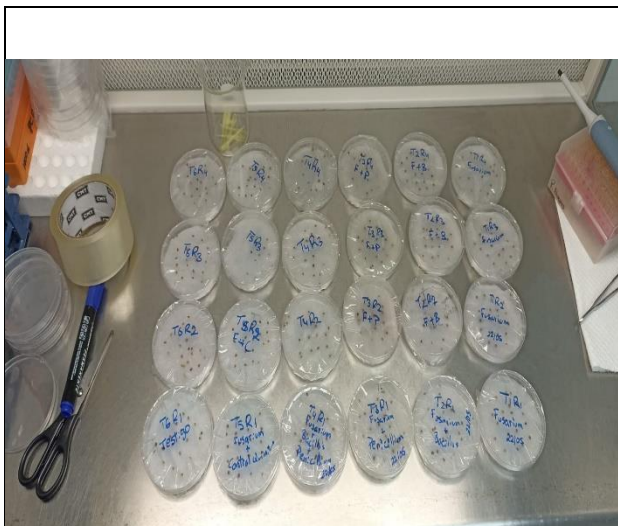


FIGURA A9. Semillas aplicadas con los diferentes tratamientos

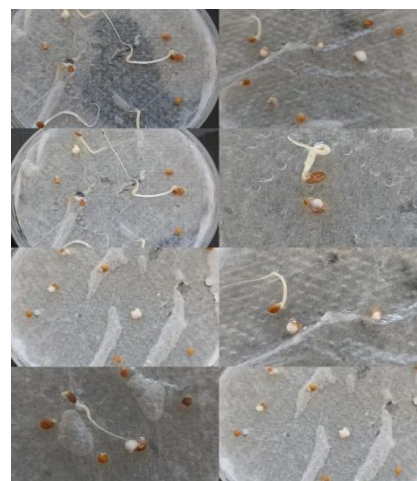


FIGURA A10. Presencia de esporas de *Fusarium* en varios tratamientos

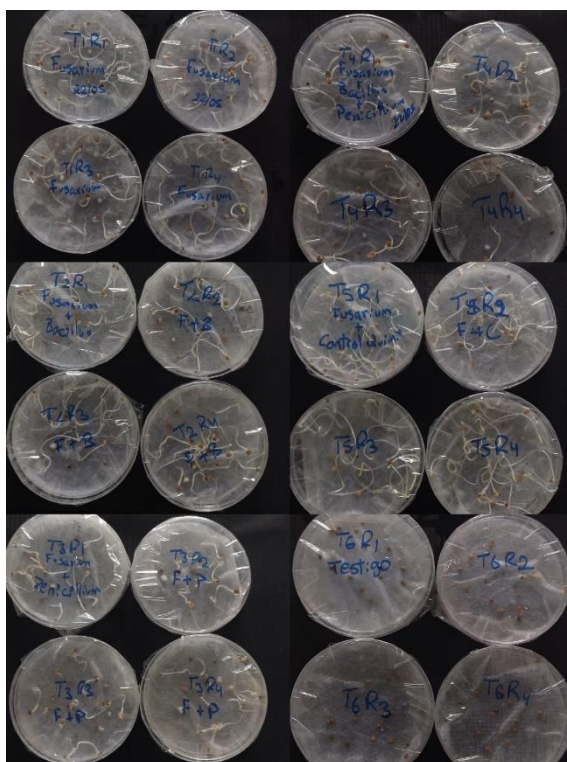


FIGURA A11. Resultados de germinación de tomate con los diferentes tratamientos.

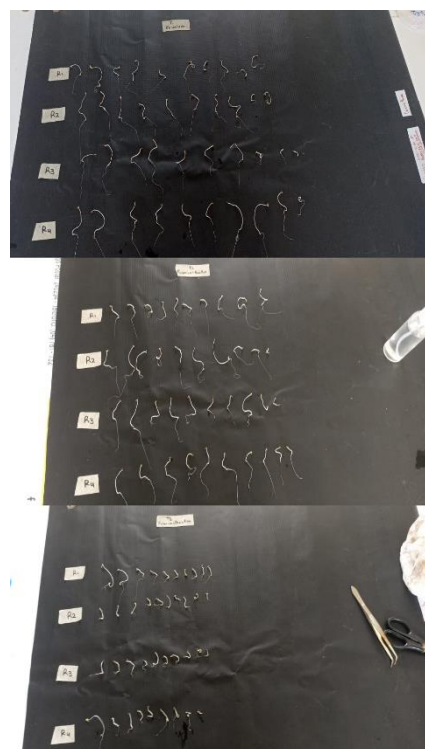


FIGURA A12. Germinación de semillas de Tratamientos 1 (arriba), 2 (en medio) y 3 (abajo).

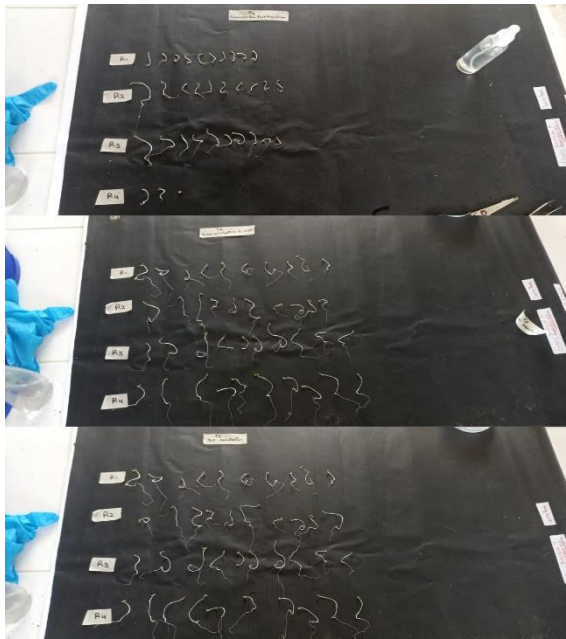


FIGURA A 13. Germinación de semillas de Tratamiento 4 (arriba), 5 (en medio) y 6 (abajo).



FIGURA A14. Etapa en vivero



FIGURA A15. Presencia de Penicillium en el sustrato.



FIGURA A16. Plántulas de tomate a los 5 días



FIGURA A17. Plántulas a los 10 días



FIGURA A 18. Inoculación de las plántulas en fase vivero

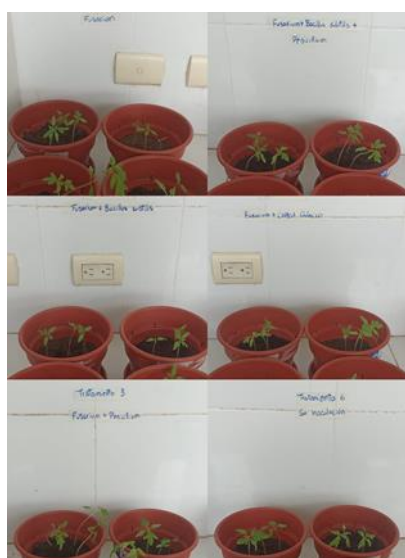


FIGURA A19. Tratamientos en vivero



FIGURA A20. Resultados de la inoculación a los 16 días.



FIGURA A21. Toma de datos finales de los tratamientos



FIGURA A 22. Presencia de síntomas de Fusarium sp., en raíz



FIGURA A 23. Toma de datos de la longitud de raíz



FIGURA A24. Observación de amarillamiento en tallo por posible Fusarium sp.



FIGURA A25. Resultados finales del tratamiento 1 (arriba), tratamiento 2 (en medio) y tratamiento 3 (abajo)



FIGURA A26. Resultados finales del tratamiento 4 (arriba), tratamiento 5 (en medio) y tratamiento 6 (abajo)

Daño raíz

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Daño raíz	480	0,11	0,10	48,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,27	5	4,85	11,62	<0,0001
Ttos	24,27	5	4,85	11,62	<0,0001
Error	198,01	474	0,42		
Total	222,28	479			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,29179

Error: 0,4177 gl: 474

Ttos Medias n E.E.

3	1,75	80	0,07	A
1	1,44	80	0,07	B
4	1,40	80	0,07	B C
2	1,28	80	0,07	B C D
5	1,14	80	0,07	C D
6	1,06	80	0,07	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

FIGURA A27. Tabla Anova del daño de raíz en etapa in vitro

Inc. Patogeno

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Inc. Patogeno	480	0,07	0,06	12,90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,64	5	0,13	7,45	<0,0001
Ttos	0,64	5	0,13	7,45	<0,0001
Error	8,19	474	0,02		
Total	8,83	479			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05933

Error: 0,0173 gl: 474

Ttos Medias n E.E.

3	1,10	80	0,01	A
5	1,01	80	0,01	B
6	1,00	80	0,01	B
4	1,00	80	0,01	B
1	1,00	80	0,01	B
2	1,00	80	0,01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

FIGURA A28. Tabla Anova de la incidencia del patógeno en etapa in vitro

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Severidad (%)	480	0,29	0,28	151,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	48347,04	5	9669,41	38,44	<0,0001
Ttos	48347,04	5	9669,41	38,44	<0,0001
Error	119228,96	474	251,54		
Total	167576,00	479			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,16005

Error: 251,5379 gl: 474

Ttos	Medias	n	E.E.
1	32,28	80	1,77 A
2	7,97	80	1,77 B
3	7,46	80	1,77 B
4	7,26	80	1,77 B
5	7,15	80	1,77 B
6	0,86	80	1,77 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

FIGURA A29.Tabla Anova de la severidad del daño en etapa in vitro.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Daño en raíz	72	0,31	0,26	35,45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,11	5	1,42	5,87	0,0002
Tratamientos	7,11	5	1,42	5,87	0,0002
Error	16,00	66	0,24		
Total	23,11	71			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,58998

Error: 0,2424 gl: 66

Tratamientos	Medias	n	E.E.
1	2,00	12	0,14 A
3	1,50	12	0,14 A
4	1,33	12	0,14 B
2	1,33	12	0,14 B
5	1,17	12	0,14 B
6	1,00	12	0,14 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

FIGURA A30.Tabla Anova del daño de raíz en etapa vivero