



## Efecto de *Bacillus megaterium* en el cultivo de fresa\*

### Effect of *Bacillus megaterium* on strawberry crop

Ramiro Daniel Acurio-Vásquez<sup>1,2</sup>, Judith Josefina García-Bolívar<sup>3</sup>

\* Recepción: 8 de mayo, 2024. Aceptación: 26 de julio, 2024. Este trabajo formó parte de una fase del proyecto de investigación Bioprospección de microorganismos benéficos presentes en frutales de interés económico del Ecuador-(Fase III).

<sup>1</sup> Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. [racurio@ups.edu.ec](mailto:racurio@ups.edu.ec) (<https://orcid.org/0000-0002-2305-4349>).

<sup>2</sup> Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Tulcán, Ecuador. [ramiro.acurio@upec.edu.ec](mailto:ramiro.acurio@upec.edu.ec) (autor para correspondencia, <https://orcid.org/0000-0002-2305-4349>).

<sup>3</sup> Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Tulcán, Ecuador. [judithj.garcia@upec.edu.ec](mailto:judithj.garcia@upec.edu.ec) (<https://orcid.org/0000-0003-0254-3626>).

### Resumen

**Introducción.** En Ecuador el cultivo de fresa tiene una relevancia tanto económica como social y un crecimiento significativo en los últimos años, sin embargo, es susceptible a diferentes tipos de plagas y patógenos. **Objetivo.** Evaluar el efecto de *Bacillus megaterium* en el cultivo de fresa en variables relacionadas con la sanidad y el rendimiento agronómico. **Materiales y métodos.** Se ejecutó el ensayo de campo en la variedad Albion de fresa, de cuatro meses de edad desde la primera cosecha, en la provincia de Pichincha, Ecuador. Se utilizaron las cepas IB6 y AB4 de *Bacillus megaterium* a concentraciones de  $1 \times 10^9$  y  $5 \times 10^8$  ufc/L, comparadas con un testigo químico de captan (3 g/L) y clorotalonil (2 mL/L) como fungicidas y abamectina (0,75 mL/L) y lambdacialotrina (0,3 mL/L) como insecticidas en rotación. Se aplicó un diseño de parcela dividida con evaluaciones en dos tiempos, entre abril y junio de 2023, se evaluó la incidencia e índice de severidad de *Botrytis cinerea* peso fresco, rendimiento, diámetros y grados Brix de frutos. **Resultados.** No hubo interacción entre los factores tratamientos y tiempo, los tiempos evaluados no mostraron diferencia estadística. El factor tratamientos presentó diferencia estadística para variables de sanidad e interés agronómico, la incidencia de *B. cinerea* en tratamientos biológicos fue la menor con 13 % en promedio, el control de ácaros fue superior a 72,71 % con la cepa IB6 concentración alta, este mismo tratamiento evidenció incrementos significativos en el peso fresco de frutos (13,2 %), diámetros (14 %) y concentración de sólidos solubles (23 %), superiores al testigo. **Conclusión.** El uso de *Bacillus megaterium* redujo la incidencia de *Botrytis cinerea*, fue efectivo contra ácaros y trips, mejoró las variables de peso fresco, diámetros y grados Brix de frutos.

**Palabras clave:** control biológico, *Botrytis*, métodos de control, bioplaguicidas.

### Abstract

**Introduction.** In Ecuador, strawberry cultivation holds significant economic and social importance, having witnessed substantial growth in recent years. However, this sector faces challenges from various pests and diseases. **Objective.** To evaluate the effect of *Bacillus megaterium* on strawberry crop variables related to plant health and agronomic yield. **Materials and methods.** Field trial was conducted on the Albion variety of strawberries, four



months after the first harvest, in Pichincha province, Ecuador. Using IB6 and AB4 strains of *Bacillus megaterium* at concentrations of  $1 \times 10^9$  y  $5 \times 10^8$  cfu/L. These were compared with a chemical control using captan (3 g/L) and chlorothalonil (2 mL/L) as fungicides, and abamectin (0.75 mL/L) and lambda-cyhalothrin (0.3 mL/L) as insecticides in rotation. A split-plot design with evaluations conducted at two intervals between April and June 2023. Variables measured included *Botrytis cinerea* incidence and severity index, fresh weight, yield, diameters, and Brix degrees of fruits. **Results.** There was no interaction between the factor showed no statistical difference for variables of health and agronomic interest, the incidence of *B. cinerea* in the biological treatments was the lowest with 13 % on average, the control of mites was 72.71 % higher with strain IB6 high concentration this same treatment, showed significant increases in the fresh weight of fruits (13.2 %), diameters (14 %), and soluble solids concentration (23 %) higher than the control. **Conclusion.** The use of *Bacillus megaterium* reduced the incidence of *Botrytis cinerea*, effective control against mites and thrips, improved fresh weight, diameters and Brix degrees of fruits.

**Keywords:** Biological control, *Botrytis*, control methods, biopesticides.

## Introducción

El cultivo de fresa *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier en el Ecuador tiene relevancia tanto en el ámbito económico como social (Barrazueta-Rojas et al., 2018). La producción de fresa ha experimentado un incremento en el país en los últimos años, convirtiéndose en una de las frutas de mayor importancia económica. La fresa es un cultivo que demanda mano de obra intensiva, lo que contribuye a generar empleo en las zonas rurales de los países (Torres et al., 2014). La fresa ocupa un lugar destacado en las dietas, debido a sus niveles elevados de nutrientes, antioxidantes y sus propiedades hipolipemiantes, lo que la convierte en un producto atractivo desde el punto de vista médico (Llanes Echevarría, 2017).

El cultivo de fresa es susceptible a diferentes tipos de plagas y enfermedades que afectan su producción y calidad. Las principales plagas que afectan este cultivo son el ácaro o araña roja (*Tetranychus urticae*), la mosca de la fruta (*Anastrepha* spp.) y el trips de las flores (*Frankliniella occidentalis*) (Benítez-Díaz et al., 2015). Las principales enfermedades que afectan el cultivo de fresa son el mildiu vellosa (*Peronospora sparsa*), la botritis (*Botrytis cinerea*) y la antracnosis (*Colletotrichum acutatum*) (Petrasch et al., 2019). Además, las condiciones ambientales como la humedad y la temperatura, también cumplen un papel importante en la aparición y propagación de estas plagas y enfermedades antes mencionadas (Koike & Bolda, 2016).

El control químico de plagas ha sido una práctica común en la producción de este cultivo; sin embargo, el uso indiscriminado de pesticidas ha dejado en evidencia que puede generar problemas de toxicidad y contaminación en el ambiente y en la fruta comercial (Makris et al., 2022). Las aplicaciones frecuentes de insumos químicos están relacionadas con la resistencia de plagas, lo que ha llevado a aumentar la cantidad y variedad de productos químicos necesarios para controlarlas. El uso excesivo de pesticidas afecta la calidad de la fruta, genera residuos tóxicos y disminuye el valor comercial (del Puerto Rodríguez et al., 2014). El uso de agroquímicos también puede generar impactos negativos en la biodiversidad de las zonas de cultivo, al afectar a otros insectos, animales que no son plagas y sobre todo afectación a la salud humana (Silva et al., 2022).

Las cepas del género *Bacillus* tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de patógenos por efectos de antibiosis, así como la habilidad de inducir la activación de los mecanismos de resistencia sistémica en plantas o generar efectos de competencia por nichos ecológicos con los patógenos (Djordje et al., 2018). Estas bacterias se encuentran en el suelo y son reconocidas por sus propiedades para controlar enfermedades en las plantas, por la producción de metabolitos secundarios con actividad antifúngica y antibacteriana, lo que les permite reducir patógenos (Gadhav et al., 2016).

El uso de *Bacillus megaterium* en una formulación evaluada bajo condiciones de campo en cultivo de brócoli, presentó un control de *Alternaria japonica* similar al control químico con el fungicida Mancozeb (Acurio Vásconez et al., 2020). De la misma manera se demostró que la colonización de *Bacillus fortis* puede desempeñar un papel en la supresión de la enfermedad de la marchitez por *Fusarium* al secretar ácido fenilacético (PAA) en la rizosfera de las plantas de tomate (Pazarlar et al., 2022). El efecto de *Bacillus subtilis* en la disminución de la infección post-cosecha causada por *Botrytis cinerea* en manzanas, mediante la aplicación de suspensiones de endosporas en frutas a las que se les provocaron heridas, logró una reducción efectiva en la incidencia de la enfermedad (Villarreal Delgado et al., 2018).

El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de *Bacillus megaterium* en el cultivo de fresa, en variables relacionadas con la sanidad y rendimiento agronómico en el cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*).

## Materiales y métodos

### Sitio de estudio, material biológico y vegetal

El experimento en campo se hizo entre los meses de abril y junio de 2023, en el cantón Machachi, en la provincia de Pichincha, Ecuador (0°32'31.0"S 78°32'59.4"W). A una altitud de 2940 m s. n. m., con temperatura media de 12,6 °C y pluviosidad media mensual de 987 mm (Instituto Geográfico Militar [IGM], 2013). La plantación de fresa *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier utilizada pertenecía a la variedad Albión y de cuatro meses de edad desde la primera cosecha.

El material biológico consistió en cepas bacterianas que se obtuvieron de la colección identificada y criopreservada, en la Universidad Politécnica Salesiana en Quito, Ecuador. Ambas cepas (AB4 y IB6, pertenecientes a la especie *Bacillus megaterium*) se seleccionaron debido a que investigaciones previas han demostrado su capacidad biocontroladora en pruebas *in vitro* y en campo contra *Alternaria japonica* (Acurio Vásconez et al., 2020). Las bacterias se sembraron por separado en caldo TSB (Trypto-Casein Soy Broth) y se incubaron a 35 °C por 48 h. Luego, para masificar las bacterias, se elaboró un biopreparado sólido, según lo descrito por Acurio et al. (2018).

### Tratamientos y diseño experimental

Cada cepa masificada, en el biopreparado sólido, se evaluó a dos concentraciones:  $1 \times 10^9$  ufc/L y  $1 \times 10^8$  ufc/L. Estas fueron comparadas con el testigo químico que consistió en la rotación que usa el productor de la finca, captan 50W (3 g/L) y clorotalonil 720 (2 mL/L), como fungicidas y abamectina 18 EC (0,75 mL/L), y lambdacialotrina 25 CS (0,3 mL/L) como insecticidas (Cuadro 1). Todos los tratamientos se mezclaron con fijador agrícola nonylphenol ethoxylated (0,5 mL/L) y el fertilizante foliar Metalosato multimineral-Albion (0,5 mL/L). La aplicación de los tratamientos se hizo mediante bomba de mochila calibrada.

El diseño experimental fue en bloques completamente aleatorizados con cuatro bloques, donde se consideró a cada cama del cultivo un bloque, y un total de veinte unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo conformada por un área efectiva de cama de 1,4 m<sup>2</sup> y un total de veintidós plantas, en siembra de dos hileras en tresbolillo. Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron de forma semanal durante ocho semanas consecutivas. La primera evaluación se llevó a cabo durante la semana cinco de experimento (Tiempo 1) y la segunda, en la nueve (Tiempo 2).

**Cuadro 1.** Tratamientos con cepas de *Bacillus megaterium* a diferentes concentraciones y testigo químico aplicados en fresa, Machachi, Pichincha, Abril a Junio de 2023.

**Table 1.** Biological treatments of *Bacillus megaterium* strains at different concentrations and chemical control applied in strawberry, Machachi, Pichincha, April to June 2023.

Tratamiento	Cepa	Concentración
T1(C1-Baja)	AB4	5 x 10 <sup>8</sup> ufc/L
T2(C1-Alta)	AB4	1 x 10 <sup>9</sup> ufc/L
T3(C2-Baja)	IB6	5 x 10 <sup>8</sup> ufc/L
T4(C2-Alta)	IB6	1 x 10 <sup>9</sup> ufc/L
T5	Testigo químico	

La notación ufc/L representa unidades formadoras de colonias por litro. / The notation cfu/L represents colony forming units per liter.

### Variables de sanidad e interés agronómico

Para la evaluación de las características agronómicas, se siguió la metodología propuesta por Merchán Gaitán et al. (2014). En cuanto a los frutos, se determinó su peso fresco con una balanza electrónica marca GRAM SPX-1000D. El rendimiento promedio se calculó como el producto del número de frutos por unidad experimental multiplicado por el peso fresco promedio de los frutos. El diámetro ecuatorial y longitudinal se midieron con un calibrador marca RHOS en milímetros. La concentración de sólidos disueltos se cuantificó en porcentaje mediante un refractómetro digital marca MILWAUKEE MA871.

En cada evaluación, se tomaron los valores de incidencia e índice severidad de *Botrytis cinerea* del total de frutos cosechados de la unidad experimental. Esta última se estimó según una escala: 0 fruta sana, 1 superficie de la fruta infectada con menos del 5 %, 2 superficie de la fruta infectada del 6 % al 10 %, 3 superficie de la fruta infectada del 11 % al 25 %, 4 superficie de la fruta infectada del 26 % al 50 % y 5 superficie de la fruta  $\geq$  50 % infectada descrita por Merchán Gaitán et al. (2014). El índice de severidad ( $I$ ), que incorpora tanto la incidencia como la severidad, se expresó como la media ponderada de la severidad en porcentaje del nivel máximo posible. Esto se calculó a través de la ecuación 1, descrita por Feliziani et al. (2015).

$$I = \left[ \frac{\sum(dx f)}{(NxD)} \right] \times 100 \quad [1]$$

Donde,  $d$  es la categoría de severidad en la fruta, y  $f$  es su frecuencia con que ocurre esa la categoría de severidad,  $N$  es el número total de frutas examinadas y  $D$  la categoría más alta de severidad que ocurrió en la escala.

La efectividad en el control de trips se estimó mediante el conteo de los insectos presentes en todas las flores de la unidad experimental, al sacudir sobre una hoja de papel bond al inicio y final de los tiempos de evaluación. La efectividad del control de ácaros se evaluó por conteo de individuos en dos hojas al alzar de cada planta al inicio y final de los tiempos de evaluación, con un estereomicroscopio Nikon Smz445. En ambos casos, la eficiencia se calculó mediante la ecuación 2, descrita por García et al. (2012), donde  $N$  es el número de individuos total.

$$\% \text{ efectividad} = \left( \frac{N_{\text{inicial}} - N_{\text{final}}}{N_{\text{inicial}}} \right) * 100 \quad [2]$$

Para la evaluación estadística de repeticiones en el tiempo, se llevó a cabo un análisis de varianza univariado con un análisis de parcelas divididas en el tiempo. Este enfoque permitió determinar los efectos simples de los

tratamientos y los efectos del tiempo (Correa Londoño, 2004). Se aplicó la metodología propuesta por Vargas-Rojas et al. (2023), donde se describe el efecto aleatorio de la unidad experimental y de los bloques, considerando al factor tiempo como la parcela principal y los tratamientos biológicos en sus combinaciones y su control, así como la interacción con el tiempo se los consideró como efectos fijos.

Para validar los supuestos del análisis, se verificó la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilks para los residuos, la homocedasticidad mediante la prueba de Bartlett y la esfericidad a través de la prueba de Mauchly. El procesamiento de datos se realizó con el software Statistix 8.0 y R. Todas las pruebas se evaluaron con un nivel de confianza del 95 % y se aplicó pruebas de Tukey para diferenciación de medias.

## Resultados

La interacción entre los factores de tiempo y tratamientos no mostró significancia estadística, lo que indica la independencia de estos dos factores tanto en las variables de interés agronómico como en las de sanidad.

### VARIABLES DE SANIDAD

El análisis de varianza de parcela dividida para el factor de tratamientos evidenció diferencia significativa en las variables de incidencia de *Botrytis* ( $p = 0,0172$ ) y efectividad contra ácaros ( $p = 0,0115$ ), donde el tratamiento T2 y T3 mostraron una menor incidencia de *Botrytis* comparado con el tratamiento químico que tuvo una incidencia de 18 %, mientras los tratamientos biológicos promediaron una incidencia del 13 %. El T4 tuvo una efectividad del 72,71 % para el control de ácaros. Mientras que en el índice de severidad de *Botrytis* y efectividad contra trips no se encontraron diferencias significativas (Cuadro 2).

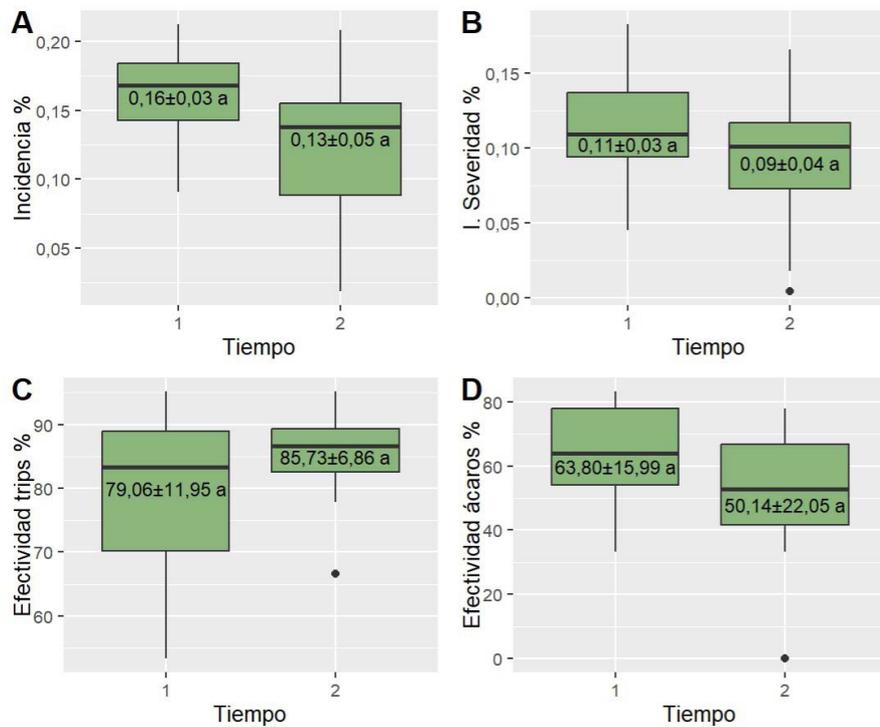
**Cuadro 2.** Diferenciación de medias para el factor tratamiento en variables de sanidad de fresa *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, expuesta a tratamientos biológicos de *Bacillus megaterium* y testigo químico, Machachi, Pichincha, Abril a Junio de 2023.

**Table 2.** Differentiation of means for the treatment factor in variables of strawberry health, exposed to biological treatments of *Bacillus megaterium* and chemical control, Machachi, Pichincha, April to June 2023.

Tratamientos	Incidencia $\pm$ d.e	Índice de severidad $\pm$ d.e	Efectividad contra ácaros (%) $\pm$ d.e	Efectividad contra trips (%) $\pm$ d.e
T1(C1-Baja)	0,142 $\pm$ 0,04 ab	0,109 $\pm$ 0,03 a	40,62 $\pm$ 18,29 b	76,89 $\pm$ 13,47 a
T2(C1-Alta)	0,130 $\pm$ 0,04 b	0,078 $\pm$ 0,03 a	59,37 $\pm$ 16,73 ab	81,53 $\pm$ 9,25 a
T3(C2-Baja)	0,125 $\pm$ 0,06 b	0,085 $\pm$ 0,04 a	53,47 $\pm$ 16,25 ab	82,94 $\pm$ 9,61 a
T4(C2-Alta)	0,141 $\pm$ 0,04 ab	0,093 $\pm$ 0,02 a	72,71 $\pm$ 8,19 a	82,02 $\pm$ 10,61 a
T5 (Quim)	0,180 $\pm$ 0,02 a	0,146 $\pm$ 0,02 a	58,68 $\pm$ 26,86 ab	88,61 $\pm$ 5,13 a

Valores medios son presentados con desviación estándar (d.e). Las letras distintas indican diferencias significativas según el análisis de comparación de medias Tukey 5 %. / Values are presented with standard deviation (d.e). Different letters indicate statistically significant differences according to the Tukey mean comparison analysis at 5 %.

El factor tiempo no mostró diferencias estadísticas, tanto la incidencia como la severidad de *Botrytis* mantuvieron valores estadísticamente iguales en el primer y segundo tiempo de evaluación. De la misma manera, la efectividad en el control de trips y control de ácaros se mantiene estadísticamente igual en los dos tiempos (Figura 1).



**Figura 1.** Diagrama de cajas para el factor tiempo en diseño de parcelas divididas de las variables de sanidad en fresa *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, Machachi, Pichincha, abril a junio de 2023. **A)** Incidencia de *B. cinerea* **B)** Índice de severidad de *B. cinerea* **C)** porcentaje de eficiencia de control de trips **D)** porcentaje de eficiencia de control de ácaros.

**Figure 1.** Box plot for strawberry health variables compared at two time points, Machachi, 2023. **A)** Incidence of *B. cinerea* **B)** severity index of *B. cinerea* **C)** percentage of efficiency of thrips control **D)** percentage of efficiency of mite control.

### VARIABLES DE INTERÉS AGRONÓMICO

El análisis de varianza para el factor de tratamientos evidenció diferencia significativa para las variables de interés agronómico como el peso promedio del fruto, el tratamiento T4 tuvo 16,82 g, que corresponde a un 13 % más que el testigo químico. El mismo tratamiento tuvo un incremento 15 % y 14 % para el diámetro longitudinal y diámetro ecuatorial de frutos, respectivamente. Todos los tratamientos biológicos mejoraron el contenido de grados Brix de forma significativa al comparar con el testigo, donde el tratamiento T4 tuvo un incremento de 23 % para esta variable. Para la variable rendimiento no existió diferencia estadística entre los tratamientos (Cuadro 3).

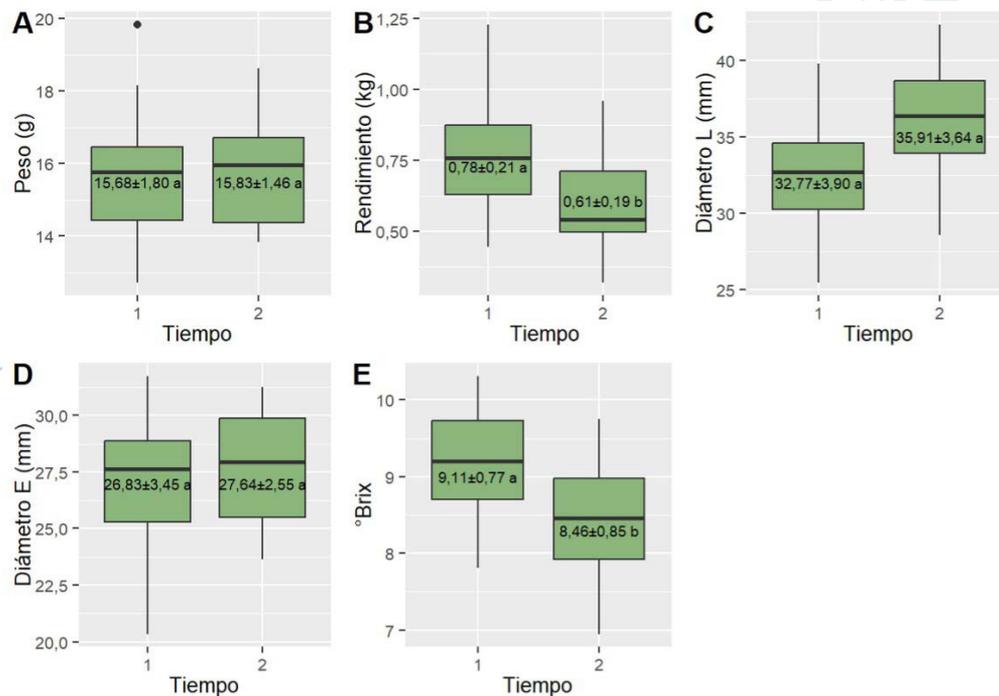
Para el factor tiempo el análisis de varianza no mostró diferencias estadísticas en el peso fresco de frutos, diámetros ecuatoriales y longitudinales de frutos que mantuvieron resultados estadísticamente iguales en el Tiempo 1 y Tiempo 2 de evaluación. Para las variables de rendimiento y grados Brix de la fruta sí se evidenció diferencia estadística entre los dos tiempos de evaluación, donde el Tiempo 1 presentó un mayor rendimiento con 0,78 kg y un mayor contenido de sólidos solubles con 9,11 % (Figura 2).

**Cuadro 3.** Diferenciación de medias para el factor tratamiento del diseño de parcelas divididas en variables de interés económico de fresa *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, expuesta a tratamientos biológicos de *Bacillus megaterium* y testigo químico, Machachi, Pichincha, Abril a Junio de 2023.

**Table 3.** Differentiation of means for the treatment factor on strawberry of agronomic variables of interest, exposed to biological treatments of *Bacillus megaterium* and chemical control, Machachi, Pichincha, April to June 2023.

Tratamientos	Peso fresco (g) ± d.e	Rendimiento (kg) ± d.e	Diámetro longitudinal (mm) ± d.e	Diámetro ecuatorial (mm) ± d.e	Grados Brix(%)± d.e
T1(C1-Baja)	16,50 ± 1,57 ab	0,70 ± 0,24 a	35,28 ± 2,51 ab	27,31 ± 2,54 ab	9,06 ± 0,71 a
T2(C1-Alta)	14,76 ± 1,19 b	0,68 ± 0,15 a	33,83 ± 4,06 ab	26,81 ± 3,60 ab	9,05 ± 0,55 a
T3(C2-Baja)	15,83 ± 1,66 ab	0,71 ± 0,23 a	35,18 ± 5,49 ab	27,48 ± 3,51 ab	8,99 ± 0,71 a
T4(C2-Alta)	16,82 ± 1,51 a	0,71 ± 0,24 a	36,04 ± 2,50 a	29,07 ± 1,73 a	9,28 ± 0,67 a
T5 (Quim)	14,86 ± 1,29 b	0,68 ± 0,25 a	31,36 ± 4,08 b	25,50 ± 2,94 b	7,54 ± 0,40 b

Los valores de peso, rendimiento, diámetro longitudinal, diámetro ecuatorial y grados Brix se presentan con desviación estándar (d.e). Las letras indican diferencias significativas según el análisis de comparación de medias. / Weight, yield, longitudinal diameter, equatorial diameter, and ° Brix values are presented with standard deviation (d.e). Letters indicate significant differences according to the mean comparison analysis.



**Figura 2.** Diagrama de cajas para el factor tiempo en diseño de parcelas divididas de las variables de interés agrónomo en fresa *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, Machachi, Pichincha, Abril a Junio de 2023. **A)** peso fresco (g) del fruto **B)** Rendimiento en kg **C)** diámetro longitudinal de fruto **D)** diámetro ecuatorial de fruto **E)** Grados Brix de la fruta

**Figure 2.** Box plot for agronomic variables in strawberries compared at two time points, Machachi, 2023. **A)** Fresh Weight (g) of fruit **B)** Yield in kg **C)** Longitudinal Diameter of Fruit **D)** Equatorial Diameter of Fruit **E)** Brix Degrees of the Fruit.

## Discusión

El análisis de los resultados de la variable incidencia de *Botrytis* sugiere que los tratamientos biológicos aplicados a base de la bacteria *Bacillus megaterium* podrían ser una alternativa viable a los tratamientos químicos al tener una menor incidencia de forma significativa. El uso de controladores microbianos, entre ellos *Bacillus subtilis*, pueden reducir la incidencia de *Botrytis* hasta un 95 % en estambres y un 76 % en frutos. En ensayos en campo se ha podido observar que este biocontrol puede superar la eficiencia de fungicidas como el captan (Petrasch et al., 2019). Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas entre cepas y concentraciones. Esto podría deberse a que las cepas pertenecen a la misma especie y el potencial genético de este género es muy diverso. *Bacillus* es capaz de formar diferentes tipos de antibióticos dependiendo el patógeno, lo cual podría influir de forma significativa en la concentración aplicada (Cawoy et al., 2015).

Al analizar el índice de severidad, se observó que los tratamientos biológicos presentaron valores estadísticos similares con el tratamiento químico, es decir, tienen el mismo nivel de control. Este hallazgo puede atribuirse a la diversidad de metabolitos secundarios que el género *Bacillus* produce con alrededor de 98 lipopéptidos distintos que son de interés debido a su actividad antagonista frente a diversos fitopatógenos (Valenzuela Ruiz et al., 2020). Dichos lipopéptidos modifican la permeabilidad y la composición de las membranas lipídicas, lo que reduce el crecimiento del micelio y por ende, el grado de afectación de hongos fitopatógenos (Bustamante Salgado, 2015). De forma específica los lipopéptidos de *Bacillus megaterium*, como la Iturina A y Fengicina A, fueron capaces reducir la severidad del tizón tardío en papa por debajo del tratamiento químico a base de metalaxil (Wang et al., 2020).

El T4 (C2-Alta) exhibió una efectividad de control de ácaros mientras para el control de trips no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos biológicos y químicos, lo que sugiere que la aplicación de *Bacillus megaterium* podría ser una alternativa a los insecticidas químicos. Algunas especies de *Bacillus*, reconocidas por su efecto biofungicida, también han presentado efecto bioinsecticida (Gravel & Naasz, 2019). La utilización de *Bacillus pumilus* y *Bacillus subtilis* para el control de trips, es viable dado que este grupo de bacterias pueden producir diferentes tipos de endotoxinas que actúan a nivel del sistema digestivo de insectos y ácaros (Kumar et al., 2021). Esto ofrece una alternativa a los insecticidas y acaricidas químicos y la posibilidad de diseñar planes de manejo integrado (Ongena & Jacques, 2008).

Entre diferentes especies de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en fresa, *Bacillus subtilis* obtuvo los mejores resultados, con un mayor peso de fruto con valores de 11,18 g en un estudio realizado por Badar et al. (2022). La capacidad de las especies del género *Bacillus* para mejorar crecimiento y desarrollo de frutos, se debe a la capacidad de solubilizar fósforo en el suelo, fijar nitrógeno y producir sideróforos (Elnahal et al., 2022; Hashem et al., 2019). Esto se relaciona con los resultados obtenidos en esta investigación la variable peso fresco del fruto que tuvo incrementos significativos sobre el testigo donde el tratamiento T4 (C2-Alta) tuvo los mejores resultados, más no se encontraron diferencias significativas en el rendimiento entre los tratamientos biológicos y el testigo químico.

El aumento del diámetro longitudinal y ecuatorial en los frutos de fresa es un indicativo de la mejora de la calidad, como se evidenció con la aplicación de tratamientos biológicos frente al testigo presentó valores más bajos para estas mismas variables. Se ha descrito que el uso de *B. subtilis* mejora de forma significativa el crecimiento y rendimiento de los cultivares de fresa (Badar et al., 2022). Además, *B. megaterium* demostró un aumento en los contenidos de N y Mg en fresa y estimuló el desarrollo de diversos órganos en las plantas (Da Silva et al., 2022).

El análisis de los grados Brix de los tratamientos biológicos reveló valores más altos que el testigo químico. Esto demuestra que *B. megaterium* es capaz de aumentar la concentración de sólidos solubles en los frutos, estos resultados coinciden por quienes informan que la aplicación de PGPR (bacterias promotoras del crecimiento vegetal) aumentan los sólidos solubles totales con valores en el caso de *Bacillus subtilis* de 9,35 % de sólidos solubles (Badar et al., 2022). Los inoculantes microbianos del género *Bacillus* pueden ser considerados como

aditivos seguros, económicos y convenientes para mejorar la calidad de los frutos y son una opción sustentable al uso de químicos (Da Silva et al., 2022).

Para las variables de interés agronómico como peso, diámetro longitudinal y ecuatorial, no se observaron diferencias significativas para el factor tiempo, lo que sugiere que estas características se mantuvieron consistentes en ambos períodos de evaluación. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas para las variables de rendimiento y grados Brix. La primera cosecha (Tiempo 1) presentó mayor rendimiento y contenido de sólidos solubles. El rendimiento más bajo en la segunda cosecha (Tiempo 2) podría atribuirse a la menor cantidad de frutos esto puede atribuirse a los ciclos productivos que suelen mantener las plantas de fresa que pueden tomar de 30 a 50 días desde la polinización hasta la madurez del fruto, más no a un efecto de los tratamientos aplicados, de la misma manera se considera un mínimo de 7 % de sólidos solubles lo cual indica que estuvo por encima de este valor en la segunda cosecha (Benavides et al., 2022).

## Conclusiones

El uso de *Bacillus megaterium* fue efectivo para controlar *Botrytis cinerea* al mantener la incidencia por debajo de los valores del tratamiento testigo químico.

La efectividad contra trips fue similar entre los tratamientos biológicos y el tratamiento testigo químico, mientras que la efectividad contra ácaros fue mayor en el tratamiento T4(C2-Alta), que corresponde a la cepa IB6 en comparación con el testigo químico.

Las variables de interés agronómico, como peso fresco de frutos, diámetros y grados Brix, tuvieron diferencias significativas, con valores superiores a los encontrados en el tratamiento testigo químico.

## Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento al Grupo de Investigación BIOARN, la Universidad Politécnica Salesiana y la Universidad Politécnica Estatal del Carchi que han permitido desarrollar y publicar esta investigación

## Conflicto de intereses

Los autores indican que no se presenta conflicto de interés en el desarrollo de esta investigación.

## Referencias

- Acurio, R., Ñacato, C., & Valencia, M. (2018). Native strains of *Bacillus subtilis* as a biocontrol agent *in vitro* *Alternaria* spp. in *Brassica oleracea* var. *italica*. *Bionatura*, 3(2), 607–611. <https://doi.org/10.21931/RB/2018.03.02.8>
- Acurio Vásconez, R. D., Tenorio Moya, E. M., Collaguazo Yépez, L. A., Chiluisa-Utreras, V. P., & Vaca Suquillo, I. D. (2020). Evaluation of *Bacillus megaterium* strain AB4 as a potential biocontrol agent of *Alternaria japonica*, a mycopathogen of *Brassica oleracea* var. *italica*. *Biotechnology Reports*, 26, Article e00454. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00454>
- Badar, M. A., Mehmood, K., Hassan, I., Ahmed, M., Ahmad, I., Ahmad, N., & Hasan, M. U. (2022). Plant growth promoting

- bacteria (pgpb) enhance growth and yield of strawberry cultivars. *Applied Ecology and Environmental Research*, 20(3), 2187–2203. [https://doi.org/10.15666/aeer/2003\\_21872203](https://doi.org/10.15666/aeer/2003_21872203)
- Barrazueta-Rojas, S. G., Falconí, J. F., Navarro Ojeda, M. N., Oleas-López, J. M., & Mendoza-Zurita, G. X. (2018). Pysicochemical properties and application of edible coatings in strawberry *Fragaria × Ananassa*) preservation. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 71(3), 8631–8641.
- Benavides, Á., Cisne, J., Morán, J., & Duarte, H. (2022). *Producción orgánica de fresa (Fragaria spp.)*, las Sabanas, Madriz, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria, Managua.
- Benítez-Díaz, P., Miranda-Contreras, L., Balza-Quintero, A., Sánchez-Gil, B., & Molina-Morales, Y. (2015). Residuos de plaguicidas en fresa (*Fragaria x ananassa*) cosechada en una región agrícola del estado de Mérida, Venezuela. *Bioagro*, 27(3), 181–188. [http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev27\(3\)/7.%20ms%201525.pdf](http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev27(3)/7.%20ms%201525.pdf)
- Bustamante Salgado, M. R. (2015). *Obtención y evaluación in vitro de metabolitos secundarios de dos cepas de Bacillus subtilis contra el hongo fitopatógeno Fusarium spp* [Tesis de pregrado, Escuela Agrícola Panamericana]. Repositorio digital-Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/4551>
- Cawoy, H., Debois, D., Franzil, L., De Pauw, E., Thonart, P., & Ongena, M. (2015) Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*. *Microbial Biotechnology*, 8(2), 281-95. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12238>
- Correa Londoño, G. (2004). *Análisis de medidas repetidas* (1ª ed.). Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/3150>
- da Silva, L. I., Pereira de Oliveira, I., da Conceição Jesus, E., Corrêa Pereira, M., Pasqual, M., de Araújo, R. C., & Dória, J. (2022). Fertilizer of the future: Beneficial bacteria promote strawberry growth and yield and may reduce the need for chemical fertilizer. *Agronomy*, 12(10), Article 2465. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102465>
- del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Effects of pesticides on health and the environment. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387. <https://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/329>
- Elnahal, A. S. M., El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Desoky, E-S. M., El-Tahan, A. M., Rady, M. M., AbuQamar, S. F., & El-Tarabily, K. A. (2022). The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review. *European Journal of Plant Pathology*, 62(4), 759–792. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02393-7>
- Feliziani, E., Landi, L., & Romanazzi, G. (2015). Preharvest treatments with chitosan and other alternatives to conventional fungicides to control postharvest decay of strawberry. *Carbohydrate Polymers*, 132, 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.078>
- Gadhave, K. R., Finch, P., Gibson, T. M., & Gange, A. C. (2016). Plant growth-promoting *Bacillus* suppress *Brevicoryne brassicae* field infestation and trigger density-dependent and density-independent natural enemy responses. *Journal of Pest Science*, 89(4), 985–992. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0721-8>
- García, C., Albendi, G., & Molina, J. M. (2012). Potencial de uso de extractos vegetales disponibles comercialmente en el manejo integrado de plagas de la fresa. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 38, 223–232. [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf\\_Plagas%2FBSVP\\_38\\_02\\_223\\_232.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Plagas%2FBSVP_38_02_223_232.pdf)
- Gravel, A., & Naasz, R. (2019). Development of new insect suppression solutions for greenhouse production. *ISHS Acta Horticulturae*, 1266, 121–128. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1266.17>

- Hashem, A., Tabassum, B., & Abd-Allah, E. F. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1291–1297. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>
- Instituto Geográfico Militar. (2013). *Cantón Mejía. Generación de geoinformación para gestión del territorio a nivel nacional escala 1:25.000. Clima e Hidrología*. Ministerio de Defensa Nacional, Instituto Espacial Ecuatoriano, & Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. [https://www.geoportaligm.gob.ec/descargas\\_prueba/mejia.html](https://www.geoportaligm.gob.ec/descargas_prueba/mejia.html)
- Koike, S. T., & Bolda, M. (2016). *El moho gris, o pudrición de fresa*. Comisión de la Fresa de California. <https://ucanr.edu/blogs/fresamora/blogfiles/37849.pdf>
- Llanes Echevarría, R. J. (2017). Alimentos hipolipemiantes que mejoran la salud cardiovascular. *Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular*, 23(4), 549–582. [https://revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/708/pdf\\_110](https://revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/708/pdf_110)
- Makris, G., Nikoloudakis, N., Samaras, A., Karaoglanidis, G. S., & Kanetis, L. I. (2022). Under pressure: A comparative study of *Botrytis cinerea* populations from conventional and organic farms in Cyprus and Greece. *Phytopathology*, 112(10), 2236–2247. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-21-0510-R>
- Merchán-Gaitán, J. B., Ferrucho, R. L., & Álvarez-Herrera, J. G. (2014). Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(1), 44–56. [https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias\\_hortícolas/article/view/2799/2566](https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_hortícolas/article/view/2799/2566)
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>
- Pazarlar, S., Madriz-Ordeñana, K., & Thordal-Christensen, H. (2022). *Bacillus cereus* EC9 protects tomato against *Fusarium* wilt through JA/ET-activated immunity. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 1090947. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1090947>
- Petrasch, S., Knapp, S. J., van Kan, J. A., & Blanco-Ulate, B. (2019). Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. *Molecular Plant Pathology*, 20(6), 877–892. <https://doi.org/10.1111/mpp.12794>
- Kumar, P., Pandhi, S., Kumar Mahato, D., Kamle, M. & Mishra, A., (2021). *Bacillus*-based nano-bioformulations for phytopathogens and insect-pest management. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), Article 128. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00475-6>
- Silva, V., Yang, X., Fleskens, L., Ritsema, J. C., & Geissen, V. (2022). Environmental and human health at risk Scenarios to achieve the Farm to Fork 50% pesticide reduction goals. *Environment International*, Article 165. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107296>
- Torres, T. S., Allepuz Capdevilla, R., & Gordo Márquez, M. (2014). La contratación de mano de obra temporal en la Agricultura hortofrutícola españolas. *Revista científica sobre desarrollo rural*, (16), 7–37. [http://ruralager.org/wp-content/uploads/Ager-16\\_1.pdf](http://ruralager.org/wp-content/uploads/Ager-16_1.pdf)
- Valenzuela Ruiz, V., Gálvez Gamboa, G.T., Villa Rodríguez, E.D., Parra Cota, F. I., Santoyo, G., & De Los Santos-Villalobos, S. (2020). Lipopéptidos producidos por agentes de control biológico del género *Bacillus*: revisión de herramientas analíticas utilizadas para su estudio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2(11), Artículo 2191. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.2191>

- Vargas-Rojas, J. C., Vargas-Martínez, A., & Corrales-Brenes, E. (2023). Experimentos agrícolas con medidas repetidas en el tiempo: comparación entre estrategias de análisis. *Agronomía Mesoamericana*, 34(2), Artículo 52634. <https://doi.org/10.15517/am.v34i2.52634>
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & De los Santos-Villalobos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1), 95-130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Wang, Y., Liang, J., Zhang, C., Wang, L., Gao, W., & Jiang, J. (2020). *Bacillus megaterium* WL-3 Lipopeptides Collaborate Against *Phytophthora infestans* to Control Potato Late Blight and Promote Potato Plant Growth. *Frontiers in Microbiology*, (11), Article 01602. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01602>

Manuscrito aceptado