

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

APLICACIÓN DE Bacillus subtilis COMO BIOINSUMO EN CULTIVOS DE TOMATE RIÑÓN (Lycopersicum esculentum) EN LA COMUNIDAD MONJAS TUNSHI, PARROQUIA SAN LUIS.

Trabajo de Titulación

Tipo Proyecto Técnico

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: ELSA ZULEMA TOAPANTA PAREDES

DIRECTOR: Dr. IGOR EDUARDO ASTUDILLO SKLIAROVA

Riobamba-Ecuador

© 2023, Elsa Zulema Toapanta Paredes

Se autoriza la reproducción total o parcial con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo citas bibliográficas del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Elsa Zulema Toapanta Paredes, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación, el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 15 de agosto del 2023



Elsa Zulema Toapanta Paredes 0604835041

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación, tipo Proyecto Técnico, APLICACIÓN DE Bacillus subtilis COMO BIOINSUMO EN CULTIVOS DE TOMATE RIÑÓN (Lycopersicum esculentum) EN LA COMUNIDAD MONJAS TUNSHI, PARROQUIA SAN LUIS, realizado por la señorita ELSA ZULEMA TOAPANTA PAREDES, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

| | FIRMA | FECHA |
|---|---------------------|------------|
| Dr. José Gerardo León Chimbolema PRESIDENTE DEL TRIBUNAL | Julia | 15-08-2023 |
| Dr. Igor Eduardo Astudillo Skliarova DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN | Gen Astudisho | 15-08-2023 |
| Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes ASESORA DEL TRABAJO DE | Poscera Janka Peges | 15-08-2023 |

TITULACIÓN

DEDICATORIA

Todo se lo dedico a Dios, motor principal, luz, guía y fortaleza en mi vida. A mi madre que con gran esfuerzo me acompaño en este camino de triunfos y decepciones. A mis hermanos y amigos por su apoyo incondicional. A Germania y E. Javier, por enseñarme lo que necesitaba saber de la vida y a todas las personas con un corazón inmenso, quienes en su momento con palabras y acciones han dejado huellas en mí.

Elsa

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, autoridades de la facultad y maestros, quienes comparten sus conocimientos para bien de la sociedad.

Elsa

ÍNDICE DE CONTENIDO

| ÍNDICE | E DE TABLAS | У |
|----------|--|-------|
| ÍNDICE | DE ILUSTRACIONES | X |
| ÍNDICE | DE ANEXOS | xi |
| ÍNDICE | DE ABREVIATURAS | . xii |
| RESUM | IEN | xiv |
| ABSTR | ACT | XV |
| INTRO | DUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTI | U LO I | |
| 1. | DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA | 2 |
| 1.1. | Planteamiento del problema | 2 |
| 1.2. | Justificación | 2 |
| 1.3. | Objetivos | 3 |
| 1.3.1. | Objetivo general | 3 |
| 1.3.2. | Objetivo específico | 3 |
| 2. | MARCO TEÓRICO | ∠ |
| 2.1. | Antecedentes de investigación | ∠ |
| 2.2. | Referencias teóricas | 5 |
| 2.2.1. | Genero Bacillus | 5 |
| 2.2.1.1. | Bacillus subtilis | 6 |
| 2.2.2. | Bacillus subtilis en la agricultura | 7 |
| 2.2.3. | Bioinsumo | 7 |
| 2.2.4. | Tomate riñón (Lycopersicum esculentum) | 8 |
| 2.2.4.1. | Crecimiento | 8 |
| 2.2.4.2. | Taxonomía | 8 |
| 2.2.4.3. | Características morfológicas | 9 |
| 2.2.4.4. | Etapas fenológicas del cultivo | 12 |
| 2.2.4.5. | Requerimientos edafoclimáticos | 13 |
| 2.2.4.6. | Fertilización | 13 |
| 2.2.5. | Calidad del suelo | 14 |
| 2.2.5.1. | Parámetros fisicoquímicos | 14 |
| 2.2.4.2. | Macronutrientes | 16 |
| 2213 | Micropytriantes | 17 |

| 2.3. | Base Legal | 17 |
|----------|---|----|
| 2.3.1. | Constitución de la República del Ecuador | 17 |
| 2.3.2. | Tratados y convenios internacionales | 18 |
| 2.3.2.1. | Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo | 18 |
| 2.3.3. | Leyes Orgánicas | 18 |
| 2.3.3.1. | Ley de Gestión Ambiental | 18 |
| 2.3.3.2. | Ley Orgánica de Salud | 18 |
| 2.3.3.3. | Código Orgánico Organización Territorial Autonomía Descentralización | 18 |
| 2.3.4. | Leyes Ordinarias | 19 |
| 2.3.4.1. | Ley de prevención y control de la contaminación ambiental | 19 |
| 2.3.4.2. | Ley de comercialización y empleo de plaguicidas | 19 |
| 2.3.4.3. | Ley de desarrollo agrario | 19 |
| 2.3.5. | Decretos y reglamentos | 19 |
| 2.3.5.1. | Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente | 19 |
| 2.3.6. | Acuerdos y Resoluciones | 19 |
| 2.3.6.1. | Reglamento interministerial para el saneamiento ambiental agrícola | 19 |
| 2.3.7. | Normas Técnicas | 20 |
| 2.3.7.1. | Suelo | 20 |
| CAPIT | ULO III | |
| 3. | MARCO METODOLÓGICO | 22 |
| 3.1. | Ubicación del área de estudio | 22 |
| 3.1.1. | Características del lugar | 23 |
| 3.2. | Población de estudio y/o tamaño | 23 |
| 3.3. | Técnicas de recolección de datos | 23 |
| 3.4. | Muestra | 24 |
| 3.5. | Descripción de los procesos | 24 |
| 3.5.1. | Parámetros fisicoquímicos del suelo | 24 |
| 3.5.2. | Producción del bioinsumo | 25 |
| 3.5.2.1. | Identificación de microorganismos | 25 |
| 3.5.2.2. | Siembra de Bacillus subtilis | 26 |
| 3.5.2.3. | Activación del inóculo | 27 |
| 3.5.3. | Características morfológicas | 28 |
| 3.5.3.1. | Tallo | 28 |
| 3.5.3.2. | Hojas | 28 |
| 3.5.3.4. | Fruto | 28 |

| 3.5.3.5. | Flor | 29 |
|----------|---|----|
| 3.5.3.6. | Raíz | 29 |
| 3.6. | Variables respuesta | 29 |
| 3.6.1. | Parámetros fisicoquímicos del suelo | 29 |
| 3.6.1.1. | Fase diagnostica: antes de aplicar el bioinsumo | 29 |
| 3.6.1.2. | Fase después de aplicar el bioinsumo | 29 |
| 3.6.2. | Bioinsumo | 29 |
| 3.6.3. | Características morfológicas | 30 |
| 3.7. | Análisis estadístico | 30 |
| CAPÍT | ULO IV | |
| 4. | ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS | 31 |
| 4.1. | Producción del bioinsumo | 31 |
| 4.1.1. | Identificación de microorganismos | 31 |
| 4.1.2. | Siembra de Bacillus subtilis | 31 |
| 4.1.3. | Activación de microorganismos | 32 |
| 4.1.4. | Aplicación del bioinsumo | 33 |
| 4.2. | Características morfológicas | 33 |
| 4.3. | Parámetros fisicoquímicos | 36 |
| 4.4. | Discusión | 37 |
| CAPÍT | ULO V | |
| 5. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 40 |
| 5.1. | Conclusiones | 40 |
| 5.2. | Recomendaciones | 41 |
| BIBLIC | OGRAFÍA | |
| ANEX | \mathbf{OS} | |

ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla 2-1: Taxonomía de Bacillus subtilis | 6 |
|--|---------|
| Tabla 2-2: Taxonomía del Tomate riñón (Lycopersicum esculentum) | 9 |
| Tabla 2-3: Factores edafoclimáticos para el cultivo de tomate | 13 |
| Tabla 2-4: Macronutrientes del suelo necesarios para el crecimiento de las plantas | 16 |
| Tabla 2-5: Micronutrientes del suelo necesarios para el crecimiento de las plantas | 17 |
| Tabla 2-6: Criterios de calidad del suelo | 21 |
| Tabla 3-1: Características de la parroquia San Luis | 23 |
| Tabla 3-2: Muestras de estudio | 24 |
| Tabla 3- 3: Aplicación del bioinsumo en el invernadero | 30 |
| Tabla 4-1: Altura de los tallos, tamaño de las hojas y diámetro de los frutos de las Parcela | as 1, 5 |
| y 7 | 34 |
| Tabla 4-2: Características morfológicas de la planta | 35 |
| Tabla 4-3: Parámetros fisicoquímicos del suelo | 36 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| Ilustración 2-1: Sistema radicular del tomate. | 9 |
|---|--------|
| Ilustración 2-2: Tallo del tomate. | 10 |
| Ilustración 2-3: Hojas del tomate | 10 |
| Ilustración 2-4: Flor del tomate | 11 |
| Ilustración 2-5: Fruto del tomate | 11 |
| Ilustración 3-1: Mapa de localización del proyecto | 22 |
| Ilustración 4-1: Tinción Gram, reconocimiento de la bacteria Bacillus subtilis | 31 |
| Ilustración 4-2: Tinción Gram, reconocimiento de la bacteria Bacillus subtilis | 32 |
| Ilustración 4-3: Activación del sustrato inoculado con melaza | 32 |
| Ilustración 4-4: Aplicación de Bacillus subtilis en las parcelas seleccionadas con la utili | zación |
| de un rociador de mochila | 33 |
| Ilustración 4-5: Toma de datos para determinar las características morfológicas de la pla | anta34 |
| Ilustración 4-6: Toma de muestras de la Fase diagnóstica | 36 |
| Ilustración 4-7: Toma de muestras después de aplicar el bioinsumo | 36 |

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: ENTREVISTA CON EL DUEÑO DEL INVERNADERO, VISITA AL ÁREA

DE ESTUDIO UBICADO EN LA COMUNIDAD DE MONJAS TUNSHI

ANEXO B: RESULTADOS INICIALES DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUÍMICOS

DEL SUELO DE ESTUDIO

ANEXO C: RESUTADOS FINALES DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS DEL

SUELO DE ESTUDIO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

°C: grados centígrados

ADP: Adenosín Difosfato

AMP: Adenosín Monofosfato

ATP: Adenosín Trifosfato

B: Boro

Ca: Calcio

cm: centímetros
cmol: centimol

Cu: Cobre

FAO: Food and Agriculture Organization

Fe: Hierro **g:** gramos

H: Hidrógeno

IICA: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura

ISR: Resistencia Sistémica Inducida

K: Potasio

kg: kilogramo

m: metro

Mg: Magnesio

mL: mililitro

mm: milímetro

Mn: Manganeso

MO: Materia Orgánica

msnm: metros sobre el nivel del mar

N: Nitrogeno

ONU: Organización de las Naciones Unidas

P: Fósforo

PDYOT: Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial

pH: Potencial de Hidrógeno

S: Azufre

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

uS: microSiemens

Zn: Zinc

μm: micrómetros

RESUMEN

El cultivo de tomate riñón (Lycopersicum esculentum), es uno de los que mayor producción tiene en la sierra centro del Ecuador. Además, utiliza gran cantidad de agroquímicos para su productividad, generando así un deterioro en la calidad del suelo y acumulación de residuos químicos en el fruto. La aplicación de bioinsumos a base de Bacillus subtilis permite reemplazar o disminuir el uso de estos suplementos; es por ello que se aplicó en el cultivo de tomate de riñón de un invernadero ubicado en la comunidad Monjas Tunshi, parroquia San Luis, para obtener una producción libre de contaminantes químicos y de buena productividad para los agricultores. El objetivo de esta investigación fue, elaborar un bioinsumo a base de Bacillus subtilis, mediante el uso de tecnologías innovadoras con una visión interdisciplinaria como es el control biológico mediante la aplicación de microorganismos benéficos, reduciendo elevados costos económicos con las aplicaciones de agroquímicos en las diferentes etapas del cultivo de tomate riñón. La metodología es netamente aplicativa y consistió en la preparación de diluciones de la cepa madre Bacillus subtilis en frascos y realizando un secado al producto final, para poderlo activar en agua lluvia con melaza y aplicarlo cada 15 días de manera foliar. Se recolectó datos de las características fisiológicas y morfológicas de la planta, también se realizó análisis de los parámetros fisicoquímicos del suelo en la fase diagnostica antes de colocar el bioinsumo y después. Dando como resultado, que la aplicación sirvió como biofertilizante para el cultivo, sin embargo, pudo también ayudar como biopesticida, sin embargo, el método de aplicación no favoreció y se presentó algunas alteraciones fisiológicas y morfológicas en la Parcela 1. Se recomienda, realizar un estudio enfocado a la comparación con una parcela testigo y adicional, y los gastos generados durante la producción común con químicos.

Palabras claves: <TOMATE RIÑON>, <FERTILIZANTE>, <PESTICIDA> <Bacillus subtilis>, <CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS>, <CARÁCTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS>, <PARÁMETROS FISICOQUIMICOS DEL SUELO>, CALIDAD DEL SUELO>.

1672-DBRA-UPT-2023



ABSTRACT

Beefsteak tomato (Lycopersicum esculentum) is one is one of the crops with the highest production in the central highlands of Ecuador. In addition, it uses a large amount of agrochemicals for its production, thus generating a deterioration in soil quality and accumulating chemical residues in the fruit. The application of the Bacillus subtilis-based fertilizer replaces or reduces the use of these supplements; therefore, it was applied in the cultivation of beefsteak tomato in a greenhouse located in the Monjas Tunshi community, San Luis rural parish, to obtain a production free of chemical contaminants as well as productivity for farmers. The aim of this research was to elaborate a Bacillus subtilis-based fertilizer, using innovative technologies, with an interdisciplinary approach for the biological control through the application of beneficial microorganisms to reduce high economic costs with the application of agrochemicals in the different stages of the beefsteak tomato crop. The methodology is purely applicative and consisted of preparing dilutions of the Bacillus subtilis original strain in flasks for the drying of the final product. Then, it is activated in rainwater and molasses and applied every 15 days as a foliar application. Data on the physiological and morphological characteristics of the plant was collected, as well as the analysis of the physicochemical parameters of the soil during the diagnostic phase before and after the application of the fertilizer. As a result, the application worked as a biofertilizer for the crop; however, it could also be used as a biopesticide; however, the application method did not benefit the physiological and morphological characteristics of Plot 1. It is recommended to carry out a study focused on the comparison with a control plot as well as the expenses generated by the common production with chemicals.

Keywords: <BEEFSTEAK TOMATO>, <FERTILIZER>, <PESTICIDE>, <Bacillus subtilis>, <PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS>, <MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS>, <PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF THE SOIL>, <SOIL QUALITY>.

Lic. Paul Rolando Armas Pesántez Mgs.

C.I. 0603289877

INTRODUCCIÓN

El bioinsumo a base de *Bacillus subtilis* fue aplicado en cultivos de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) de la comunidad Monjas Tunshi, parroquia San Luis. Pretendiendo encontrar una alternativa que no degaste la calidad del suelo y que mejoré la productividad y sanidad del fruto, en el contexto de una agricultura sostenible. Por lo que, se utilizó sustancias de origen microbiano, que tiene un efecto benéfico sobre el crecimiento y desarrollo de la planta (Rodríguez et al., 2020, p. 2).

El uso indiscriminado y excesivo de agroquímicos en la producción de tomate riñón ha generado preocupación por el deterioro ambiental ya que, los residuos que generan estos productos pueden infiltrarse en el suelo y llegar a las capas subterráneas de agua, contaminando así los recursos hídricos (Jiménez, 2022, p. 54). Además, el uso indebido o excesivo de los agroquímicos puede resultar en la presencia de residuos químicos en los tomates, lo que representa un riesgo para la salud humana si se consumen en cantidades elevadas (Jiménez, 2022, p. 18). Por lo que, los micro productores agropecuarios están consideran la alternativa de los bioinsumos como una opción para incrementar la producción utilizando sus propios recursos y tecnología. Así también, contribuir a una gestión más sostenible del suelo y que puede extenderse tanto a la agricultura orgánica como a la convencional (Mera y Valle, 2019, p. 17).

El presente proyecto de investigación tiene finalidad práctica ya que, pretende la solución de un problema real que se evidencia en la zona de estudio, generando una metodología amigable con el ambiente y económicamente sostenible; además, se cuenta con el aval del Laboratorio de la Asociación de Producción Industrial Licán, quienes aportaron con los microorganismos para el desarrollo de la investigación.

Mediante la investigación, se pretende que los agricultores comprendan que una de las alternativas eficaces es la utilización del bioisumo a base de *Bacillus subtilis* que dependiendo de su forma de aplicar este puede actuar como biofertilizante o biopesticida. En un periodo de aplicación de 8 días con el método drench para su efectividad como biopesticida, debido a la solubilización de fósforo en las plantas que le da, una resistencia sistémica inducida (ISR) que posee frente a bacterias y hongos patógenos, virus sistémicos y nematodos de la raíz y como biofertilizante cada 15 días de manera foliar ya que, actúa como fijador de nitrógeno, lo que significa que tiene la capacidad de convertir el nitrógeno atmosférico en una forma que las plantas pueden utilizar (Corrales et al., 2017, pp. 55-62). Además, un incremento en la presencia de nutrientes y con ello una producción menos contaminada. La metodología es práctica y con el asesoramiento de un técnico, el agricultor puede aprovechar los beneficios de este microorganismo.

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La provincia de Chimborazo es considerada una de las zonas con mayor actividad agrícola en el país, entre sus productos más representativos se puede mencionar los siguientes: papa, maíz, cebada, trigo, tomate riñón, cebolla blanca, habas, quinua, arveja, entre otros. En la actualidad, el uso de insumos químicos en el sector de la producción ha incrementado de una manera alarmante, esto trae consigo la interrupción del ciclo ecológico natural, degradación ambiental, afecciones tanto a la salud humana de quienes mantienen contacto directo e indirecto con estos productos químicos y al suelo recurso en el que se desarrolla esta actividad (Jiménez, 2022, p. 60).

Según el Plan de desarrollo y Ordenamiento Territorial de la parroquia San Luis "Cuna de la Producción Agrícola" (2015, p. 138), es la parroquia rural de la ciudad de Riobamba con mayor número de población y su principal actividad económica es la agricultura, la cual se desarrolla de forma convencional y un alto porcentaje bajo condiciones de invernadero. Entre los cultivos que destacan en el territorio se pueden mencionar: pimiento, lechuga, col, navo, tomate de árbol, mora, fresa, tomate riñón, considerando este último para la investigación, el cual se desarrolla bajo las condiciones de invernadero ya que, demanda especial cuidado debido a la presencia de plagas y enfermedades, siendo este el motivo principal para la utilización de productos químicos durante las etapas de desarrollo de la planta.

Para que el desarrollo de las actividades agrícolas dé resultados equilibrados en temas de productividad y sostenibilidad, se debe brindar el correcto cuidado al recurso suelo. Como menciona la FAO (2016, p. 43), donde aseveran que el suelo al ser reten y hábitat para diferentes seres vivos requiere cuidados que garanticen su calidad a fin de obtener productos nutritivos y con bajos niveles de contaminación. De modo que, el nexo que se pretende al implementar microorganismos en el cultivo de tomate riñón sea para mejorar la calidad del suelo y del producto.

1.2. Justificación

En Monjas Tunshi, comunidad perteneciente a la parroquia San Luis se desarrolla el cultivo de tomate riñón bajo condiciones de invernadero. Debido a la utilización de productos químicos (pesticidas, fungicidas, plaguicidas, entre otros) y la emanación de gases por la quema de plásticos

y maderas de los invernaderos, los recursos suelo y aire presentan altos niveles de contaminación, así como también el recurso agua, este en cambio por la presencia de asbesto en las tuberías (PDYOT, 2015, p. 294). Frente a esta problemática, una alternativa viable para el control de contaminación de suelos y enfermedades en las plantas, es la utilización de productos de origen biológico de los cuales se conoce ventajas y beneficios debido a estudios que se han realizado. El Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) detalla, por ejemplo, las características y beneficios que brindan determinados microorganismos, uno de ellos es *Trichoderma spp.* un hongo que ha sido utilizado con mayor frecuencia y logra desarrollarse en la mayoría de hábitats, es utilizado para controlar una alta cadena de microorganismos fitopatógenos que afectan el desarrollo normal de cultivos (Chiriboga et al., 2015, p. 4). Este trabajo de investigación pretende aplicar *Bacillus subtilis* como alternativa biológica para el control de plagas y enfermedades en los cultivos de tomate riñón, demostrar la eficiencia de su aplicación a los agricultores de la zona quienes desconocen el potencial de estos microorganismos y determinar la calidad del suelo tras su aplicación.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Aplicar *Bacillus subtilis* como bioinsumo en cultivos de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) en la comunidad Monjas Tunshi, parroquia San Luis.

1.3.2. Objetivo específico

- Determinar la calidad del suelo del lugar de estudio por medio de análisis físico-químicos como fase diagnóstica antes de la aplicación de *Bacillus subtilis*.
- Emplear *Bacillus subtilis* en cultivos de tomate riñón bajo condiciones de invernadero con la utilización de un rociador de mochila.
- Evaluar las características morfológicas del tomate riñón luego de la aplicación de *Bacillus* subtilis.
- Comparar las características del suelo entre la fase diagnóstica y la aplicación de *Bacillus* subtilis para la determinación de la calidad del suelo.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

Este proyecto, pretende aplicar *Bacillus subtilis* como bioinsumo para el control de afecciones en cultivos de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) producidos en invernaderos y analizar los beneficios de su aplicación en el suelo. Los agricultores de la zona desconocen el potencial de la aplicación de microorganismos, perspectiva que esta investigación pretende aportar.

El microorganismo *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) se ha utilizado durante décadas para producir suplementos dietéticos (probióticos) para animales y humanos, así como medicamentos. Actualmente, una gran cantidad de *B. subtilis* y sus metabolitos como lo son sus enzimas se utilizan en la producción de productos biológicos agrícolas y de biorremediación. Esta bacteria y otras especies en la agricultura representan cerca de la mitad de los bioplaguicidas disponibles en el mercado mundial. En los Estados Unidos *B. Subtilis* está en el grupo de productos empleados para el control de enfermedades fúngicas en vegetales, frutas, frutos secos y cultivos vitícolas. Se ha convertido en un microorganismo muy importante para diversos fines, como ayudar a descomponer los residuos vegetales, producir enzimas para la producción química, producir fertilizantes y controlar tanto bacterias como hongos patógenos y no se considera un patógeno para los humanos; sin embargo, puede contaminar los alimentos. Es susceptible de manipulación genética, por lo que es un organismo modelo para la investigación en laboratorio (Mendoza, 2016, p. 21).

Por ello, se ha considerado *B. subtilis* en estudios del Instituto Politécnico Nacional de Chiapas en México, en el cual se realizó un análisis del efecto de dos cepas bacterianas en el crecimiento de maíz; como resultado de esta investigación se señaló que dichas cepas tienen efectos positivos sobre la raíz aportando a su crecimiento. Además, gracias a la capacidad de solubilizar fós foro aumentan el contenido de fós foro en tejidos de la planta (Gutiérrez et al., 2022, p. 203).

En Ecuador, la utilización de *B. subtilis* en calidad de biocontrolador fue evaluado en el cultivo de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum Mill*) en Lita-Imbabura para verificar su efectividad en enfermedades del cultivo como: *Alternaria spp y Phytophthora infestans*. Para lo cual se utilizaron tres dosis del agente biológico (6 x 10⁷, 6 x 10⁹ y 6 x 10¹² UFC/ml) más dos testigos absolutos y convencional. El estudio se lo desarrollo en dos etapas: semillero, contabilizando la variable de mortalidad y en campo los números de flores o frutos, los resultados conseguidos por

el *B. subtilis* fue superior que el tratamiento químico. En lo que respecta a las variables fitopatogénicas no se evidenció la presencia de *Alternaria spp*; en tanto que *Phytophthora infestans* obtuvo una incidencia del 100% en el cultivo, pero la severidad para los tratamientos con *B. subtilis* fue bastante bien atenuada llegando a valores inferiores al 41%. Por tal motivo se afirmó que la utilización de *B. subtilis* es una alternativa viable para el manejo de enfermedades foliares (Portilla, 2022, p. 11).

Según Zambrano (2021, p. 45), en la investigación realizada en la Troncal-Cañar menciona que el crecimiento de las plantas, rendimiento e incorporación de nutrientes son parámetros considerados para validar la eficiencia de *B. subtilis* en los cultivos de pepino, los ya que tienen como ventaja la formación de endosporas que permiten su estabilidad como biofertilizante dando como resultado: incremento en el tamaño de tallos, abundante área foliar, frutos más robustos y biomasa de la raíz.

Al mencionar estos resultados con la aplicación de *B. subtilis* en estas variedades de cultivos, se espera observar variaciones positivas en los cultivos de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) lo cual, de manera directa beneficiaría a los agricultores/productores en el ámbito económico, pues se reduciría el costo de inversión en productos químicos y en el tema de salud ya que, al disminuir el contacto con los químicos minimiza el riesgo de posibles afectaciones a futuro. Además, al aplicarlo de manera de bioinsumo al suelo se espera un incremento en la presencia de nutrientes y con ello una producción menos contaminada.

2.2. Referencias teóricas

2.2.1. Genero Bacillus

El género *Bacillus* incluye un grupo de más de 100 especies de filogenética y fenotípicamente heterogéneo. Se caracterizan por ser grampositivos, baciliformes, catalasa positivos, aerobios estrictos o anaerobios facultativos y formadores de endosporas. Los microorganismos de este género tienen un tamaño entre 4-10 μm (Campaña, 2018, p. 5).

Las especies de *Bacillus* secretan proteínas y potentes metabolitos para controlar plagas y enfermedades, promover el crecimiento de las plantas al solubilizar el fósforo y producir reguladores del crecimiento como el ácido indolacético o las citoquininas, que se liberan a la rizosfera de la planta; asimismo, si forma parte de la comunidad microbiana, participa en la fijación de nitrógeno (López, 2022, p. 11).

El género *Bacillus* tiene la capacidad de ser metabólicamente muy diversos, lo que les permite colonizar con éxito el entorno de la rizosfera. Algunos mecanismos incluyen la solubilización de fosfato, la síntesis de fitohormonas como el ácido indolacético y la capacidad de controlar ciertos hongos patógenos en la rizosfera. Son comunes en la naturaleza, algunos forman parte de la flora normal y otros se consideran contaminantes, la diversidad de otras especies está asociada con plantas que tienen un crecimiento beneficioso y permiten el control biológico de patógenos (Campaña, 2018, pp. 4-5).

2.2.1.1. Bacillus subtilis

Son Bacilos Gram positivos, termófilos, aerobios, productores de esporas y colonias rugosas. Están ampliamente distribuidos en el suelo, el aire y los tejidos vegetales. Son bacilos activos en la descomposición de tejidos animales y otros restos. Hay diferentes cepas de *B. subtilis* que pueden estar en forma líquida, sólida y como biofertilizante que se utilizan como agentes biológicos de control de plagas y enfermedades (López, 2022, p. 11).

Tabla 2-1: Taxonomía de Bacillus subtilis

| Dominio: | Bacteria |
|----------|-------------|
| Filo: | Firmicutes |
| Clase: | Bacilli |
| Orden: | Bacillales |
| Familia: | Bacillaceae |
| Género: | Bacilus |

Realizado por: Toapanta E., 2023

Fuente: López, 2022, pp. 11-12

El género *Bacillus subtilis* pertenece a la familia *Bacillaceae* y es uno de los microorganismos bioquímicamente más activos debido a su capacidad cosmopolita que los caracteriza por estar presente en muchos hábitats, pertenecen a las bacterias grampositivas, aerobias y anaerobias facultativas, son bastante móviles, con catalasa positiva, se reproducen por fisión binaria y producen diversas enzimas hidrolíticas como quitinasa, celulasa, amilasa, proteasa y glucanasa. *B. subtilis* representa uno de los rasgos más importantes que se encuentran en este género, producen esporas que les permiten sobrevivir en condiciones adversas al entrar en un período de latencia o criptobiosis o también llamado disminución del metabolismo (Mendoza, 2016, p. 17).

2.2.2. Bacillus subtilis en la agricultura

Bacillus spp. promueve el crecimiento vegetal a través de dos mecanismos: la solubilización de fósforo en las plantas y la resistencia sistémica inducida (ISR) que poseen frente a bacterias y hongos patógenos, virus sistémicos y nematodos de la raíz. La solubilización de fósforo se logra mediante la liberación de ácidos orgánicos, gradientes de protones y mecanismos de catálisis (acción de las fosfatasas) (Corrales et al., 2017, p. 55).

En la fijación de nitrógeno es el proceso por el cual el nitrógeno atmosférico se convierte en amoníaco, que es una forma de nitrógeno que las plantas pueden utilizar. *Bacillus spp.* ha sido reportado como fijador de nitrógeno, lo que significa que tiene la capacidad de convertir el nitrógeno atmosférico en una forma que las plantas pueden utilizar. Sin embargo, no hay suficientes fuentes que describan el mecanismo de acción de las nitrogenasas del género *Bacillus*. Se encuentran reportes que clasifican este género bacteriano como fijador de nitrógeno junto a otros microorganismos formando consorcios y demostrando que tienen actividad nitrogenasa, lo cual se ha demostrado en medios selectivos (Corrales et al., 2017, p. 62).

2.2.3. Bioinsumo

Los bioinsumos pueden ser clasificados desde distintos puntos de vista. En cuanto a su origen, pueden ser bioinsumos de origen vegetal o microbianos; y en cuanto a su efecto sobre la planta, pueden ser clasificados en dos grandes grupos: biofertilizantes y biopesticidas. Asimismo, en estas categorías se pueden identificar subcategorías, como, por ejemplo, dentro de los biopesticidas, se encuentran los bioinsecticidas, bioacaricidas, biofungicidas y bactericidas. La aplicación de los bioinsumos puede variar según el tipo de cultivo y la etapa de desarrollo en la que se encuentre (Mamani De Marchese y Filippone, 2018, p. 13).

Los bioinsumos son productos biológicos derivados de organismos vivos, tales como: hongos, bacterias, materia vegetal y otros, por lo tanto, juegan un papel importante en el aumento de la cantidad de nutrientes para la producción agrícola y actúan en los ciclos biológicos y químicos, por lo que son una herramienta en programas de agricultura ecológica y convencional. Estos métodos se combinan con la biofertilización, que mejora la fertilidad, ya que los microorganismos del suelo pueden aumentar la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Se cree que el uso de los bioinsumos en cualquier sistema de producción agrícola traerá grandes beneficios y no tendrá efectos nocivos sobre el medio ambiente (Mera y Valle, 2019, p. 16).

2.2.4. Tomate riñón (Lycopersicum esculentum)

El tomate de mesa, también conocido como tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*), es una de hortaliza con mayor difusión productiva a nivel nacional e internacional (Escobar y Lee, 2009, p. 11). Según Heuvelink, 2018 citado en Portilla (2022, p. 22), "su origen se localiza en América del Sur a lo largo de la cordillera de los Andes desde Colombia hasta Chile, pero se manifiesta que su domesticación fue en México, país que actuó como centro de difusión de la especie".

2.2.4.1. Crecimiento

Es una planta herbácea, de tallo semileñoso que forma entre 5 a 10 hojas antes de producir el primer racimo floral que puede presentar dos tipos de crecimiento: indeterminado y determinado. El crecimiento indeterminado es que la planta puede producir frutos a lo largo de toda la temporada de cultivo indefinidamente, ya que se forma en la axila de la hoja más joven (la que se localiza por debajo del racimo floral más reciente), pero requiere mejores instalaciones como sistemas de soporte con nutrientes y agua a su disposición, también se debe evitar la proliferación de nuevos tallos. Por otro lado, el crecimiento determinado está sujeto a un número predefinido de tallos y hojas que se desarrollan antes de que el crecimiento se detenga para que los racimos de flores y frutos se formen en las axilas de las hojas a lo largo de la planta principal, a medida que estos racimos maduran y se cosechan, la planta se vuelve menos productiva, pero se consigue producir una gran cantidad de frutos en un período de tiempo más corto lo que requiere una planificación adecuada para maximizar el rendimiento (Escobar y Lee, 2009, p. 14)

2.2.4.2. Taxonomía

El tomate es una planta dicotiledónea, perteneciente a la familia *Solanaceae* y al género *Lycopersicum* como se observa en la Tabla 2-2.

Tabla 2-2: Taxonomía del Tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*)

| Reino: | Plantae |
|-------------------|-------------------------|
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Orden: | Solanales |
| Familia: | Solanáceae |
| Género: | Lycopersicum |
| Especie | Lycopersicum esculentum |
| Descriptor (1788) | Miller |

Realizado por: Toapanta E., 2023

Fuente: Jaramillo et al., 2007, p. 56

2.2.4.3. Características morfológicas

Sus características morfológicas se refieren a las características físicas y visuales que se pueden observar en esta variedad de tomate (*Lycopersicum esculentum*). Algunas de las variables morfológicas más comunes del tomate de riñón son:

Sistema radicular

Está compuesto por una raíz principal de corta extensión ramificada en numerosas raíces secundarias que no superan los 30 cm de profundidad y en la parte superior al nivel del suelo, se desarrollan raíces adventicias que ayudan a anclar la planta con el suelo o el sustrato (López, 2016, p. 16). La raíz está compuesta por una epidermis o parte externa en donde se encuentran pelos absorbentes especializados en tomar agua y nutrientes, y en la parte interna se localizan el córtex y el cilindro central conformado por el xilema, que es el tejido responsable del transporte de los nutrientes desde la raíz hacia las hojas y otros órganos de la planta (Escobar y Lee, 2009, p. 14).



Ilustración 2-1: Sistema radicular del tomate.

Fuente: Portilla, 2022, p. 92

Tallo

"El tallo también está conformado por epidermis, que contiene pelos glandulares, corteza, cilindro vascular (xilema) y tejido medula" (Escobar y Lee, 2009, p. 14). Tiene un diámetro de 2 y 4 cm en la base de la planta y es más delgado en la parte superior y la altura del tallo puede variar entre 1,5 y 2 m, esta medida puede variar dependiendo de diferentes variables como el sistema de entrenamiento utilizado (como la poda o el uso de soportes), el manejo del riego y la nutrición de la planta (Portilla, 2022, p. 71).



Ilustración 2-2: Tallo del tomate.

Fuente: López, 2016, p. 14

Hojas

Las hojas del tomate son de forma ovalada que miden 4-60 mm x 3-40 mm y tienen un borde dentado, además son de color verde y están recubiertas de pelos glandulares dispuestas de forma alterna a lo largo del tallo de la planta (López, 2016, p. 14). El número de hojas por tallo y la frecuencia de aparición de hojas están determinados principalmente por el tipo de hábito de crecimiento de la planta y por la temperatura (Escobar y Lee, 2009, p. 14).



Ilustración 2-3: Hojas del tomate

Fuente: Portilla, 2022, p. 90

Flor

Las flores de tomate suelen ser amarillas y tienen cinco pétalos de 1 a 2 cm de diámetro, en el centro de la flor se encuentran los estambres filamentos delgados con anteras en los extremos, las anteras (parte masculina de la flor) que producen polen, en el centro de los estambres se encuentra el pistilo (parte femenina de la flor) está compuesto por un estigma, un estilo y un ovario, el estigma (parte receptor del pistilo donde se recoge el polen) (Jaramillo et al., 2007, pp. 57-58).



Ilustración 2-4: Flor del tomate.

Fuente: López, 2016, p. 15

Fruto

El fruto es de forma ovalada y alargada, que puede alcanzar un rango de peso que oscila entre unos pocos miligramos a 600 g, inmaduro es verde y, cuando madura, se torna rojo intenso (Jaramillo et al., 2007, p. 58). La baya contiene las semillas, que presentan un tamaño promedio de 2 a 5 mm y presentan forma ovoide, comprimidas, con superficie lisa o muy velluda, de tonalidad parda y están recubiertas en una abundante masa mucilaginosa (Díaz y Hernández, 2003, p. 63).



Ilustración 2-5: Fruto del tomate.

Fuente: López, 2016, p. 19

2.2.4.4. Etapas fenológicas del cultivo

El cultivo de tomate presenta varias etapas de desarrollo durante su crecimiento, las cuales difieren en cuanto a las necesidades de agua y nutrientes frente al desarrollo mismo de la planta. Es importante resaltar que los tiempos son indicativos, ya que pueden ser diferentes dependiendo de la variedad, del manejo del cultivo y de la zona en la cual se establece el cultivo (Cámara de Comercio de Bogotá CCB, 2015, p.34).

- Crecimiento vegetativo
- Floración y cuaja
- Desarrollo del fruto
- Madurez fisiológica y cosecha

Crecimiento vegetativo

Comprende los primeros 45 días desde la siembra de la semilla, la planta ha superado el estrés del trasplante y comienza el desarrollo continuo de todos los órganos, es aquí cuando es necesario la implementación del sistema tutorado y de manejo del cultivo utilizando podas y desprendiendo ramas que no favorezcan una disposición para la alta productividad, además en esta etapa la planta asimila el 60% del nitrógeno, el 50% del fósforo y el 45% del potasio por lo que, deben estar disponibles y por ello se aportan fertilizantes en el momento de la plantación (Gorini, 2018, p. 10). Esta etapa tiene una duración de cuatro semanas de crecimiento rápido (Portilla, 2022, p. 26). Es fácil concluir que los elementos minerales deben estar disponibles.

Floración

Este período comienza alrededor de 20-40 días después del trasplante. Por lo general, después de que han crecido de 5 a 10 hojas y la altura de la planta supera los 40 cm. Al mismo tiempo, el crecimiento vegetativo y reproductivo se combina con la aparición de nuevas hojas e inflorescencias, a partir de las cuales se forman gradualmente los frutos (Haifa Group, 2018).

Desarrollo del fruto

Para la polinización, se requiere la ayuda de los insectos o el viento y que dan pasó a que el polen de las anteras se transfiera al estigma, y a través del tubo polínico, los granos de polen viajan hacia el ovario, donde se produce la fertilización y se forman el cuaje de la fruta (Jaramillo et al., 2007, p. 138). Una vez endurecido, comienza a crecer y por lo general no se cae ni muestra signos

de floración. El crecimiento de los frutos y la acumulación de materia seca muestran un ritmo relativamente estable hasta que alcanzan dos o tres grados de madurez (Jaramillo et al., 2007, p. 250).

Maduración fisiológica

El fruto tarda de 60 a 70 días en madurar, desde la antesis (cuajamiento) hasta el momento de la cosecha, aunque depende del tipo de variedad, nutrición de la planta y condiciones agroclimáticas.(Escobar y Lee, 2009, p. 14). Por lo tanto, la cosecha se realiza de forma continua entre 180 y 210 días después de la siembra (Haifa Group, 2018).

2.2.4.5. Requerimientos edafoclimáticos

Tabla 2-3: Factores edafoclimáticos para el cultivo de tomate

| Factores | | | |
|------------------|---|--|--|
| Temperatura | La temperatura óptima de desarrollo del cultivo oscila entre 15 °C y 25 | | |
| | °C durante el día y entre 10 °C y 17 °C durante la noche. | | |
| Humedad relativa | La humedad relativa óptima, se ubica entre 60 % y 85 %, favorece el | | |
| | desarrollo normal de la polinización y garantiza una buena producción | | |
| Tipo de Suelo | Los mejores resultados se consiguen en suelos profundos, frescos, bien | | |
| | drenados, no demasiado compactos, que retengan agua, de francos a | | |
| | arcillosos, preferiblemente por encima del 5% de materia orgánica, con | | |
| | buena presencia de nutrientes. Además, el suelo debe ser llano y libre de | | |
| | piedras y malas hierbas. | | |
| Rango de pH: | El pH del suelo debe oscilar entre 5,8 a 6,8 para garantizar la máxima | | |
| | disponibilidad de nutrientes. | | |

Realizado por: Toapanta E., 2023 Fuente: Portilla, 2022, pp. 27-28 2.2.4.6. Fertilización

A través de la fertilización se aplica el elemento faltante y se mantiene un equilibrio adecuado entre los elementos del suelo y la planta. Para calcular la cantidad de fertilizante que se debe aplicar es necesario conocer las necesidades del cultivo. El aporte se calcula como la diferencia entre lo que necesitan las plantas y la cantidad que contiene el suelo, en este caso se recomienda hacer un análisis químico del suelo (Jaramillo et al., 2007, p. 96).

La fertilización foliar proporciona una nutrición rápida y asegura un rendimiento suficiente cuando la absorción de nutrientes del suelo es deficiente, por lo que es la mejor solución para tratar las deficiencias de nutrientes. Si hay deficiencia de calcio o micronutrientes en el cultivo de tomate, complementar con una aplicación foliar semanal es la mejor alternativa (Haifa Group, 2018).

Los cultivos de tomate necesitan un suelo rico en nutrientes con alta disponibilidad de macronutrientes como N, P, K, Ca, Mg, S, y micronutrientes como Fe, Mn, Cu, B, Zn, para producir buenos rendimientos. Debido a la cantidad de minerales el estiércol es muy útil, no solo para mejorar la estructura física, sino también para nutrir el suelo y puede reemplazar fácilmente a los fertilizantes minerales (Gorini, 2018, p.23). El nitrógeno, por su parte, también estimula la vegetación y es fundamental para la nutrición de las plantas, pues es el responsable del crecimiento de los brotes y las hojas, favoreciendo a la floración y producción, por lo que es necesario utilizarlo en grandes cantidades, pero de forma equilibrada (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA, 2021, p.49). Por ejemplo, la relación de nitrógeno y potasio debe ser de 1:1; cuando comienza el llenado de fruto se requiere de una cantidad mayor de potasio, ya que este elemento contribuye con la maduración y llenado de frutos, por consiguiente, la relación de estos nutrientes debe ser 1:2 o 1:3. La absorción de macronutrientes se eleva a partir de la floración (45 días) y hasta el inicio de la m aduración de los frutos (90 días), donde se acumula la mayor cantidad de nutrientes. Los micronutrientes se aplican al follaje para que sean absorbidos por las hojas (Jaramillo et al., 2007, p. 109).

2.2.5. Calidad del suelo

La calidad del suelo es fundamental para la cuantificación, referente a un conjunto de características de productividad determinadas por una serie de indicadores o parámetros y factores que reúnen y componen características edáficas (Altamirano, 2019, p. 13).

El término "calidad del suelo" se ha utilizado para referirse a las funciones que realiza el suelo, considerándolo el sustrato primario que debe funcionar adecuadamente en el ecosistema del que forma parte y con el que interactúa. Es imprescindible saber que la calidad no depende solo de un factor, sino que al ser un concepto holístico depende de sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Cabezas y Guevara, 2020, p. 8).

2.2.5.1. Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros físicos y químicos del suelo también se conocen como indicadores y se utilizan para valorar los cambios en los sistemas agrícolas y se han evaluado cuidadosamente como indicadores de calidad, lo que indica sensibilidad a los cambios, pero debido a que son más fuertes, los resultados son detectables en mediano a largo plazo (Altamirano, 2019, p. 11).

Las propiedades físicas consideradas como indicadores de la calidad del suelo son aquellas que muestran cómo un determinado recurso capta, almacena y transmite el agua a la vegetación, y las

limitaciones que se pueden encontrar en el crecimiento, desarrollo de raíces, surgimiento de plántulas, infiltración y transporte de agua en el perfil, y que adicionalmente se vinculan en la organización de partículas y poros. Se consideran como propiedades químicas al pH, salinidad, aireación, materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, nutrientes y concentraciones de elementos tóxicos, así como también la propiedad virtualmente más relevante la capacidad amortiguadora del suelo ante una perturbación (Reinoso, 2018, p. 23-24).

pН

El potencial de hidrógeno (pH) determina qué tan bien las moléculas del suelo absorben los iones (H+) y revela si el suelo es ácido o básico. Es un indicador importante de la disponibilidad de nutrientes para plantas, influyendo a la solubilidad, movilidad, disponibilidad y otros constituyentes y contaminantes inorgánicos presentes en el suelo. Además, tiene valores que oscilan entre 3,5 (muy ácido) a 9,5 (muy alcalino). Los suelos muy ácidos (<5,5) presentan cantidades elevadas y tóxicas de aluminio y manganeso. Los suelos muy alcalinos (>8,5) tienden a dispersarse. En suelos muy ácidos la actividad de los organismos del suelo es inhibida y el valor del pH ideal para los cultivos agrícolas se encuentra en 6,5 (FAO, 2023).

Conductibilidad eléctrica

Es la medida indirecta de la cantidad de sales presentes en el suelo. La facilidad con la que las plantas pueden usar el agua del suelo depende no solo del contenido de agua del suelo, sino también de la concentración de sales disueltas en la solución del suelo. La salinidad se refiere a la concentración de iones en el suelo, y cabe señalar que muchos iones como el sodio, el aluminio y el cloro son tóxicos y pueden ser letales para los cultivos en altas concentraciones. El suelo con alta conductividad puede inhibir el desarrollo normal de las plantas debido a su alto contenido de sales. Cada cultivo puede sobrevivir en un rango ligeramente diferente de conductividad dependiendo del tipo de sales en el suelo (Cueva, 2019, p. 13).

% Materia Orgánica

Es un indicador relacionado con la calidad del suelo, y su contenido de materia orgánica contribuye a la estructura del horizonte, promueve la formación de complejos de arcilla-humus en el suelo, mejora la absorción de agua en suelos arenosos determinando la disponibilidad de nutrientes. Al basarse en el porcentaje de materia orgánica (% MO) los suelos se clasifican de la manera siguiente: (0-2 %) muy deficiente en M.O., (2-4 %) deficiente en M.O., (4-6 %) contenido normal en M.O., (6-8 %) contenido apreciable en M.O., (8-10 %) humífero, (>10) muy humífero

2.2.4.2. Macronutrientes

Tabla 2-4: Macronutrientes del suelo necesarios para el crecimiento de las plantas

| MACRONUTRIENTES | | | | |
|-----------------|--|--|--|--|
| PRIMARIOS | PRIMARIOS | | | |
| Nitrógeno | El nitrógeno del suelo es uno de los nutrientes más importantes para las plantas y uno de los más abundantes en la naturaleza. Las plantas lo asimilan en forma de cationes de amonio NH4+ o de aniones de nitrato NO3 Aunque está ampliamente distribuido en la naturaleza, existe en forma inorgánica y, por lo tanto, no puede asimilarse directamente. | | | |
| Potasio | El potasio juega un papel importante en transferencia de energía. Activa más de 60 enzimas. Es por eso que juega un papel importante en la síntesis de carbohidratos y proteínas. Mejora el régimen hídrico de las plantas y aumenta la capacidad de combatir la sequía, las heladas y salinidad. Su deficiencia provoca un estancamiento en el crecimiento de las plantas, tallos débiles, grano y frutas con contenido reducido de almidón. | | | |
| Fósforo | El fósforo realiza un papel importante en el metabolismo energético de las plantas, ya que forma parte de él moléculas de AMP, ADP y ATP. Además, el P es un componente de otros compuestos, como el ácido fítico, de suma importancia para la germinación de semillas y el desarrollo de raíces. Sin fósforo, las plantas crecen tardíamente, las hojas son de color verde azulado, violáceo y pardusco, los frutos deformados y el grano pobremente lleno. | | | |
| SECUNDARIOS | | | | |
| Calcio | El Calcio es un nutriente esencial que forma parte de la estructura una pared celular, como pectato de calcio, que une las paredes celulares primarias, da a la pared celular una cierta estabilidad y rigidez. Mantienen la estructura membranas celulares mediante la regulación de la permeabilidad, la presencia de pectato protege los tejidos de las infecciones fúngicas. | | | |
| Magnesio | El magnesio es un componente central de la clorofila, el pigmento verde de las hojas actúa como receptor solar; entonces 15 a 20% Mg contenido en la planta se encuentra en las partes verdes. La deficiencia o defecto manifiesta por una decoloración amarillenta entre las nervaduras verdes, seguido de manchado y necrosis. | | | |
| Azufre | El Azufre (S) es un importante material de construcción de proteínas y también está involucrado en su formación de clorofila. Es absorbido por las raíces de las plantas en forma de aniones sulfato (SO4 -2), forma parte de proteínas y vitaminas como tiamina, biotina y componente de muchas enzimas. Con la deficiencia de S las hojas de la planta se vuelven de color amarillo aun siendo una planta joven. | | | |

Realizado por: Toapanta E., 2023 Fuente: Cueva, 2019, pp. 15-16

2.2.4.3. Micronutrientes

Tabla 2-5: Micronutrientes del suelo necesarios para el crecimiento de las plantas

| MICRONUTRIENTES | | |
|-----------------|---|--|
| Hierro | El Hierro es un elemento esencial en la síntesis de la clorofila, es parte esencial de la fotosíntesis y la respiración, actúa como catalizador de la división celular y procesos de crecimiento. Aparecen signos de deficiencia especialmente con clorosis pronunciada entre las nervaduras de las hojas jóvenes. | |
| Zinc | El Zn es un elemento esencial en la síntesis de proteínas, participa activamente en formación de almidón, maduración y producción de semillas. También interviene en la síntesis de triptófano, precursor del ácido indol acético, por lo que su deficiencia conduce a una deficiencia de auxinas, reduciendo la elongación. | |
| Manganeso | El Manganeso participa en la síntesis de clorofila y asimilación de NO -3, se transporta a través de xilema como Mn ²⁺ y almacenado como óxido de Mn. Participa en la captura y transporte de N, P, Ca y Mg, y se les asigna un papel importante en la germinación y madurez fisiológica del grano de las plantas. | |
| Cobre | El cobre participa como coenzima en varios sistemas enzimáticos involucrados en la formación y conversión de aminoácidos. Las plantas carentes de este nutriente se manifiestan por marchitez en hojas jóvenes. | |

Realizado por: Toapanta E., 2023

Fuente: Cueva, 2019, p. 16

2.3. Base Legal

2.3.1. Constitución de la República del Ecuador

Dentro de la Constitución del año 2008, se declara que:

La preservación del ambiente, en el que el estado promoverá la utilización de tecnologías que sean ambientalmente amigables y no contaminantes, para preservar la soberanía alimentaria, sin afectar a los diferentes recursos y si en el caso de ser afectados, se tiene la obligación de remediarlos y restaurarlos. Todo esto se encuentra bajo la tutela de la defensoría del ambiente y naturaleza (Registro Oficial 449, 2008, p. 13).

2.3.2. Tratados y convenios internacionales

2.3.2.1. Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo

Instrumentos internacionales sobre medio ambiente y desarrollo sostenible afirma que: "Esta declaración tiene como objetivo establecer una alianza mundial nueva y equitativa entre los Estados, procurando alcanzar acuerdos internacionales en los que se respeten los intereses de todos y se proteja la integridad del sistema ambiental y de desarrollo mundial" (ONU, 1992, p. 4).

2.3.3. Leyes Orgánicas

2.3.3.1. Ley de Gestión Ambiental

Es un mecanismo de coordinación para el sistema de manejo ambiental y gestión de los recursos naturales, que la autoridad ambiental como ente regulador, promueve la conservación del ambiente y uso sustentable de los recursos naturales. Aplicando políticas que aseguren que cualquier actividad que se realice, deberá contar con licencias, en la que se deben aplicar las normas ambientales establecidas en esta ley (Registro Oficial Suplemento 418, 2004a, p. 45).

2.3.3.2. Ley Orgánica de Salud

"Establece normas de prevención, que se encuentran involucrada el ambiente con la salud humana, en las que todas las personas naturales y entidades deben cumplir las normas estipuladas en esta ley" (Registro Oficial Suplemento 423, 2015, p. 3).

2.3.3.3. Código Orgánico Organización Territorial Autonomía Descentralización

Responsabilidades a los diferentes niveles de gobierno, que garantiza el cumplimento de las normativas que se encuentren vigentes tanto rurales como urbanos, en las que se debe planificar, gestionar y vigilar la preservación del medio ambiente en los diferentes territorios (Registro Oficial Suplemento 303, 2018, p. 116).

2.3.4. Leyes Ordinarias

2.3.4.1. Ley de prevención y control de la contaminación ambiental

"Al procedimiento para la prevención y control de la contaminación de los recursos de aire, agua y suelo" (Registro Oficial Suplemento 418, 2004, p. 4).

2.3.4.2. Ley de comercialización y empleo de plaguicidas

Reglamenta la comercialización y expendio de los plaguicidas, así como su utilización, en la que se evaluará la toxicidad de los químicos empleados para su elaboración. Además, analiza los riegos que se puede generar a la salud y a los diferentes recursos (Registro Oficial Suplemento 315, 2004, p. 2).

2.3.4.3. Ley de desarrollo agrario

Conforme a la Ley de desarrollo agrario (2004) tiene como principal objetivo: "El desarrollo y fomento de esta actividad de manera integral, manteniendo el manejo de los recursos sustentables, y a su vez garantizando la alimentación dentro del territorio" (Comisión de Legislación y Codificación, 2004, p. 4).

2.3.5. Decretos y reglamentos

2.3.5.1. Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente

Conforme al Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente afirma que: es una unificación de legislación ambiental, que busca identificar las políticas y estrategias específicas y guías necesarias para asegurar por parte de todos los actores involucrados en el desarrollo del proyecto, una adecuada gestión ambiental permanente, dirigida a alcanzar el desarrollo sustentable (Registro Oficial Edición Especial 2, 2017, p. 2).

2.3.6. Acuerdos y Resoluciones

2.3.6.1. Reglamento interministerial para el saneamiento ambiental agrícola

Acuerdo Ministerial 365 Registro Oficial 431 de 04-feb.-2015 Estado: Vigente. El presente Reglamento interministerial para el saneamiento ambiental agrícola (2015) regula y controla

todas las áreas que: "Corresponden a los agroquímicos y actividades agrícolas, dentro del territorio ecuatoriano que use agroquímicos garantizando la salud humana y la preservación de los recursos agrícolas" (Acuerdo Nº 365, 2014, p. 3).

2.3.7. Normas Técnicas

2.3.7.1. Suelo

- Norma técnica ecuatoriana NTE INEN-ISO 1038-1: Calidad del suelo. Muestreo. Directrices para el diseño de programas de muestreo
- Norma técnica ecuatoriana NTE INEN-ISO 1038-2: Calidad del suelo. Muestreo. Directrices para el diseño de técnicas de muestreo
- Norma técnica ecuatoriana NTE INEN-ISO 1038-2: Calidad del suelo. Muestreo.
 Guía de procedimiento para la investigación de sitios naturales, casi naturales y cultivados

Tabla 2-6: Criterios de calidad del suelo

| Parámetro | Unidades (Concentración en peso seco de suelo) | Valor | | |
|--|--|-------|--|--|
| Parámetros Generales | respectively. | | | |
| Conductividad | uS/m | 200 | | |
| рН | | 6 a 8 | | |
| Relación de absorción de Sodio (Índice SAR) | | 4* | | |
| Parámetros inorgánicos | | | | |
| Arsénico (inorgánico) | mg/kg | 12 | | |
| Azufre (elemental) | mg/kg | 250 | | |
| Bario | mg/kg | 200 | | |
| Boro (soluble en agua caliente) | mg/kg | 1 | | |
| Cadmio | mg/kg | 0.5 | | |
| Cobalto | mg/kg | 10 | | |
| Cobre | mg/kg | 25 | | |
| Cromo Total | mg/kg | 54 | | |
| Cromo VI | mg/kg | 0.4 | | |
| Cianuro (libre) | mg/kg | 0.9 | | |
| Estaño | mg/kg | 5 | | |
| Flúor (total) | mg/kg | 200 | | |
| Mercurio | mg/kg | 0.1 | | |
| Molibdeno | mg/kg | 5 | | |
| Níquel | mg/kg | 19 | | |
| Plomo | mg/kg | 19 | | |
| Selenio | mg/kg | 1 | | |
| Vanadio | mg/kg | 76 | | |
| Zinc | mg/kg | 60 | | |
| Parámetros orgánicos | | | | |
| Benceno | mg/kg | 0.03 | | |
| Clorobenceno | mg/kg | 0.1 | | |
| Etilbenceno | mg/kg | 0.1 | | |
| Estireno | mg/kg | 0.1 | | |
| Tolueno | mg/kg | 0.1 | | |
| Xileno | mg/kg | 0.1 | | |
| PCBs | mg/kg | 0.1 | | |
| Clorinados Alifáticos (cada tipo) | mg/kg | 0.1 | | |
| Clorobencenos | mg/kg | 0.05 | | |
| Hexaclorobenceno | mg/kg | 0.05 | | |
| Hexaclorociclohexano | mg/kg | 0.03 | | |
| Fenólicos no clorinados (cada tipo) | mg/kg | 0.01 | | |
| Clorofenoles (cada tipo) | | | | |
| Hidrocarburos totales (TPH) | mg/kg | 0.05 | | |
| | mg/kg | <150 | | |
| Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) cada tipo | mg/kg | 0.1 | | |

Fuente: ACUERDO MINISTERIAL N° 28, 2015, pp. 118-119

Realizado por: Toapanta E., 2023

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación del área de estudio

Monjas Tunshi es una comunidad perteneciente a San Luis, una de las parroquias rurales del cantón Riobamba, en la provincia de Chimborazo. Está limitada al norte con el Cantón Riobamba, al Sur con Chambo y Punín, al oeste con Cacha, Riobamba y Punín y al Oeste con Chambo como se muestra en la Ilustración 6-3.

MAPA DE LOCALIZACIÓN DEL PROYECTO

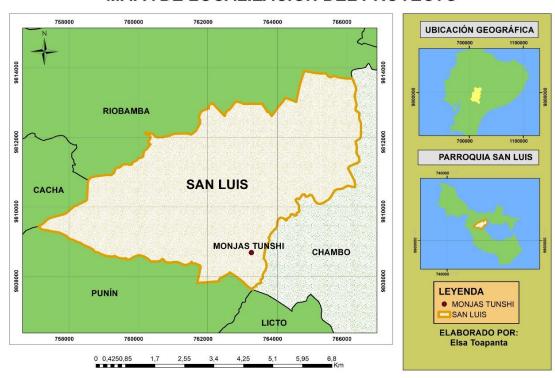


Ilustración 3-1: Mapa de localización del proyecto

3.1.1. Características del lugar

Tabla 3-1: Características de la parroquia San Luis

| Características de la parroquia San Luis | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|
| Rango altitudinal | 2.584 msnm - 2839 msnm | | | | |
| Clima | Templado Sub Andino | | | | |
| Temperatura | Máxima 18° C, mínima 10° C, promedio 14° C | | | | |
| Precipitación | Máxima 1000mm, mínima 43mm, promedio 520mm | | | | |
| Humedad relativa | 75-80% | | | | |
| Viento | 2,3 m/s | | | | |
| Suelo | Suelos profundos más de 50cm, fértiles, textura franca o franco- | | | | |
| | arenosa, poca materia orgánica, buena retención de humedad, pH | | | | |
| | ligeramente ácido, suelos de poca pendiente | | | | |
| Agua | La distribución del riego para la parroquia, está bajo la administración | | | | |
| | de la Corporación de Regantes de Chimborazo, y está diseñada por | | | | |
| | zonas y en cada una de ellas por la respectiva toma de acuerdo a la | | | | |
| | superficie bajo riego. | | | | |

Realizado por: Toapanta E., 2023
Fuente: PDYOT, 2015, p. 22-23

3.2. Población de estudio y/o tamaño

Para la presente investigación se consideró como población de estudio los cultivos de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) que se desarrollaron bajo condiciones de invernadero en la comunidad de Monjas Tunshi en la parroquia San Luis.

El método de muestreo que se aplicó es de tipo no probabilístico por conveniencia, esto debido a que se contó con el asesoramiento de un técnico y los agricultores quienes con su experiencia pudieron guiar la elección, basados en los objetivos que se plantearon en la investigación.

3.3. Técnicas de recolección de datos

- La investigación se llevó a cabo mediante análisis cuantitativo con el fin de reportar los parámetros fisicoquímicos del suelo y las características morfológicas de la planta, que presentó la población de estudio tras la aplicación de *Bacillus subtilis*.
- Se aplicó la técnica de observación estructurada con la ayuda de una guía de observación.
- Los parámetros fisicoquímicos del suelo, fueron analizados por el Laboratorio de Técnicos
 Especialistas de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario AGROCALIDAD.

3.4. Muestra

El invernadero contenía 13 parcelas, el total de plantas por parcela fue de 230. Por lo que, se consideró 26 muestras por parcela con un intervalo de elección de cada 7 plantas. Las parcelas de estudio consideradas solo fueron las parcelas 1, 5 y 7.

En el caso de las muestras de suelo se realizó de manera aleatoria.

Tabla 3-2: Muestras de estudio

| Total de parcelas en el invernadero | 13 |
|-------------------------------------|----------------|
| Total de plantas por parcela | 230 |
| Muestras consideradas por parcela | 26 |
| Intervalo de elección | Cada 7 plantas |
| Parcelas de estudio | 1-5-7 |
| Muestras de suelo | Aleatorias |

Realizado por: Toapanta E., 2023

3.5. Descripción de los procesos

3.5.1. Parámetros fisicoquímicos del suelo

Materiales:

- Excavadora
- Fundas ziploc
- Marcador para rotular

Procedimientos:

Según Bonilla (2013, p. 32):

- 1. Se seleccionó el área y se limpió retirando la parte vegetal y residuos de materia orgánica.
- 2. Luego se procedió a tomar las muestras mediante el método de cuarteo a una profundidad de 20 cm para la cual se utilizó una excavadora manual, y se tomó varias submuestras que fueron depositadas en un balde plástico.
- 3. Las submuestras se mezclaron homogéneamente y en forma manual en el balde.
- 4. Se tomó una porción de 700 g como muestra para su envío al laboratorio.

Este procedimiento se realizó al inicio antes de aplicar el bioinsumo y al final después de sus aplicaciones.

3.5.2. Producción del bioinsumo

El bioinsumo se preparó con la cepa madre de la bacteria facilitada por el laboratorio ASOPROIL. El proceso incluyó la identificación de los microorganismos mediante el método de Tinción Gram, se seleccionó de método de reproducción de los microorganismos de interés y finalmente se activaron para su posterior aplicación (Mohammadi y Sohrabi, 2012 citados en: Rojas, 2020, p. 32). El procedimiento se detalla a continuación:

3.5.2.1. Identificación de microorganismos

Materiales:

- Mechero
- Asa
- Portaobjetos
- Microscopio

Reactivos:

- Cristal Violeta
- Safranina
- Alcohol cetona
- Yodo
- Agua destilada

Procedimientos:

- 1. Se preparó un protis: añadiendo una pequeña cantidad de la bacteria sobre una gota de agua en un portaobjetos.
- 2. Se extendió bien y se dejó secar al aire.
- 3. Se fijó la muestra pasando la placa por la llama.
- 4. Se comenzó con la tinción: COLORANTE BASICO-cristal violeta: Añadiendo una pequeña cantidad sobre la muestra y esperando 1 minuto y se retiró el exceso.
- 5. Se añadió Lugol: cubriendo toda la zona de tinción. Se esperó 1 minuto y se retiró el exceso.

6. Se decoloró con alcohol.

NOTA: en las Gram positivas el Cristal violeta va a ser retenido por la capa de peptidoglucano, mientras que en las Gram negativas el alcohol va a retirar el cristal violeta.

- 7. Se retiró el alcohol con agua.
- 8. Se añadió SAFRANINA (colorante de contraste) y se esperó 1 minuto y medio y se retiró el exceso.

NOTA: Las bacterias Gram negativas se tiñen, pero no las que ya están con CRISTAL VIOLETA (Gram positivas).

- 9. Se limpió con agua.
- 10. Se observó en el microscopio.

3.5.2.2. Siembra de Bacillus subtilis

Materiales:

- Bisturí
- Jeringas 10 mL
- Frascos de vidrio
- Botellas para esterilización
- Sustrato
- Papel periódico
- Tijeras
- Cinta
- Rotuladores
- Mechero
- Guantes
- Mascarilla
- Cofia

Reactivos:

- Agua destilada
- Alcohol

Equipos

- Autoclave

- Molino
- Microscopio
- Balanza Analítica

Procedimientos:

- 1. Se molió el sustrato para mejorar la adaptabilidad de los microrganismos.
- 2. Se pesó 500 gramos de sustrato para cada frasco (5 frascos) y con la ayuda de papel periódico se selló muy bien los frascos.
- 3. Se esterilizó los frascos de sustratos y 1000 mL de agua.
- 4. Cuando estuvo listo, se retiró y se esperó que se enfríe.
- 5. Cuando el agua se encontró fría, se diluyó la caja Petri de cultivo puro de Bacillus subtilis.
- 6. Con la ayuda de una jeringa, se añadió 30 mL del cultivo diluido en los frascos de sustrato previamente esterilizado, se agitó muy bien para que se homogenice.
- 7. Estos fueron los frascos -hijos- por lo que se etiquetó y se dejó reposar bajo sombra y a temperatura ambiente por tres días.
- 8. A partir de los frascos -hijos- se obtuvo los frascos -nietos.
- 9. A los tres días de reposo de los frascos -hijos-. se pesó 350 gramos de sustrato para cada frasco (25 frascos) y con la ayuda de papel periódico se selló muy bien y se esterilizó.
- 10. Se retiraron de la autoclave y se esperó que se enfríe.
- 11. De cada frasco -hijo- se obtuvo 3 frascos -nietos-.
- 12. Se agitó bien hasta homogenizar.
- 13. Se dejó reposar 3 días bajo sombra y a temperatura ambiente.
- 14. Pasado el tiempo estimado se trasladó los frascos -nietos- a la zona de secado en donde estuvieron cuatro días.
- 15. Finalmente, se procedió al empaque.

3.5.2.3. Activación del inóculo

Materiales:

- Tanque de 200 litros

Reactivos:

- Agua de lluvia
- Frascos nietos de Bacillus subtilis
- Maleza

Procedimientos:

- En un tanque de 200 litros totalmente limpio y estéril se agregó agua de lluvia reposada dos días.
- 2. Se agregó 600 gramos de los frascos nietos de Bacillus subtilis
- 3. Se agregó 1 litro de melaza y mezcló bien.
- 4. Se conservó bajo sombra y absolutamente cubierto, durante 72 horas.

3.5.3. Características morfológicas

Materiales:

- Guía de observación
- Cinta métrica/regla
- Esferos

Procedimientos:

3.5.3.1. Tallo

Tras la aplicación del bioinsumo *Bacillus subtilis*, se observó las características físicas del tallo, las cuales se anotaron en la guía de observación. Posteriormente, se medió con la cinta métrica la altura del mismo.

3.5.3.2. Hojas

Tras la aplicación del bioinsumo *Bacillus subtilis*, se consideró 6 hojas por cada planta para observar las características físicas y medir el tamaño de hojas con la cinta métrica. Finalmente, estos datos fueron anotados en la guía de observación.

3.5.3.3. Fruto

Tras la aplicación del bioinsumo *Bacillus subtilis*, se observó las características físicas del fruto distribuidos en tres pisos, considerando una planta por parcela. Además, se tomó medidas con la cinta métrica del diámetro del fruto en 26 muestras. Finalmente, estos datos fueron anotados en la guía de observación.

3.5.3.4. Flor

Tras la aplicación del bioinsumo *Bacillus subtilis*, se observó las características físicas de la flor, para anotarlas en la guía de observación.

3.5.3.5. Raíz

Tras la aplicación del bioinsumo *Bacillus subtilis*, se realizó una perforación en el suelo para observar este sistema radicular y anotar en la guía de observación las características físicas.

3.6. Variables respuesta

En el estudio se evaluaron tres variables, la toma de datos se inició desde la primera fase que fue antes de colocar el bioinsumo, hasta la segunda fase que fue después de las aplicaciones del bioinsumo. Los parámetros a evaluar fueron:

3.6.1. Parámetros fisicoquímicos del suelo

3.6.1.1. Fase diagnostica: antes de aplicar el bioinsumo

La toma de muestras de suelo se realizó: el lunes 5 de diciembre del 2022. La misma que fue enviada al laboratorio certificado el martes 6 de diciembre del 2022. Los resultados fueron recibidos el 20 de diciembre del 2022.

3.6.1.2. Fase después de aplicar el bioinsumo

La toma de muestras de suelo se realizó: el martes 9 de mayo del 2023. La misma que fue enviada al laboratorio certificado el miércoles 10 de mayo del 2023. Los resultados fueron recibidos el 24 de mayo del 2023.

3.6.2. Bioinsumo

El bioinsumo a base de *Bacillus subtilis* se aplicó de manera foliar con un rociador de mochila. En las primeras fases de desarrollo del cultivo, cuando este estuvo con una altura menor a 25 cm y cuando el cultivo superó los 25 cm; la frecuencia fue cada 15 días.

La aplicación del bioinsumo esta descrita en la Tabla 9-3, se aplicaron cada 15 días por un periodo

de 6 meses. El riego se realizó mediante una regadera con agua riego, de acuerdo a los requerimientos del cultivo y considerando los factores climáticos (Vega, 2022, p. 21).

Tabla 3-3: Aplicación del bioinsumo en el invernadero

| Mes | Fecha |
|------------|------------|
| Diciembre | 7-12-2022 |
| Dicientole | 21-12-2022 |
| Enero | 4-01-2023 |
| Ellelo | 18-01-2023 |
| Febrero | 1-02-2023 |
| redicto | 15-02-2023 |
| | 1-03-2023 |
| Marzo | 15-03-2023 |
| | 29-03-2023 |
| Abril | 12-04-2023 |
| Aum | 26-04-2023 |
| Mayo | 10-05-2023 |

Realizado por: Toapanta, E., 2023

3.6.3. Características morfológicas

Las características físicas y morfológicas de la planta de tomate riñón (Lycopersicum esculentum) fueron recolectadas: el miércoles 22 de febrero del 2023.

3.7. Análisis estadístico

La presente investigación se llevó a cabo por el método cuantitativo puesto que, no se analizó datos bajo subjetividad, lo que se busca más bien es analizar las características de la aplicación de *Bacillus subtilis* por lo que, se planteó una investigación de tipo cuasiexperimental por la elección no aleatoria de las variables. Además, se llevó a cabo de manera explicativa pretendiendo dar causalidad y entender el fenómeno estudiado.

El presente trabajo de investigación detalla los datos que se obtuvieron durante el desarrollo bajo la estadística descriptiva la cual facilitó técnicas y procedimientos que ayudaron a describir, mostrar y resumir la información de la población de estudio que se considerado.

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Producción del bioinsumo

4.1.1. Identificación de microorganismos

Partiendo de la placa madre de *Bacillus subtilis*, se tomó una pequeña cantidad de bacteria sobre una gota de agua en un portaobjetos, creando un frotis. A través del método de tinción Gram se observó en el microscopio con los lentes (10X, 40X, 100X), teniendo mejor visualización con el lente 100X. Permitiendo identificar que el *Bacillus subtilis* es un organismos unicelulares Grampositivos. A continuación, se puede observar el procedimiento en la Ilustración 4-1:



Ilustración 4-1: Tinción Gram, reconocimiento de la bacteria Bacillus subtilis.

Realizado por: Toapanta, E., 2023

4.1.2. Siembra de Bacillus subtilis

Se realizó el método de dilución seriada, que inició con la elaboración del medio de cultivo utilizando 500 g de Nutrient Agar ISO en 1000 mL de agua, obteniendo 5 frascos de solución debidamente esterilizados. En los que se añadió 30 mL del cultivo puro diluido de *Bacillus subtilis* (estos fueron los frascos hijos) y se dejó reposar bajo sombra y a temperatura ambiente por tres días. A partir de los frascos hijos se obtuvo 3 frascos nietos que se dejaron reposar tres días. Después se pesó 350 gr de sustrato para cada frasco (25 frascos) y con la ayuda de papel periódico se selló muy bien y se esterilizó, se dejó reposar 3 días bajo sombra y a temperatura ambiente. Finalmente, se trasladó los frascos nietos de *Bacillus subtilis* (10⁹ UFC/mL) a la zona de secado en donde estuvieron cuatro días. A continuación, se puede observar el procedimiento en la

Ilustración 4-2:



Ilustración 4-2: Tinción Gram, reconocimiento de la bacteria Bacillus subtilis.

Realizado por: Toapanta, E., 2023

4.1.3. Activación de microorganismos

En un tanque estéril se agregó 200 lts de agua de lluvia reposada, 600 gr frascos nietos de *Bacillus subtilis* (10⁹ UFC/mL), 1 litro de melaza y se mezcló bien. Se conservó bajo sombra absolutamente cubierto, durante 72 horas.



Ilustración 4-3: Activación del sustrato inoculado con melaza

4.1.4. Aplicación del bioinsumo



Ilustración 4-4: Aplicación de Bacillus subtilis en las parcelas seleccionadas con la utilización de un rociador de mochila

Realizado por: Toapanta, E., 2023

4.2. Características morfológicas





Ilustración 4-5: Toma de datos para determinar las características morfológicas de la planta

Realizado por: Toapanta, E., 2023

Tabla 4-1: Altura de los tallos, tamaño de las hojas y diámetro de los frutos de las Parcelas 1, 5 y 7

| | PARCELA 1 | | | P. | ARCELA | . 5 | PARCELA 7 | | | |
|----------|------------|--------------|------------|------------|--------------|------------|------------|--------------|------------|--|
| | TALLO (cm) | HOJA (cm) | FRUTO (cm) | TALLO (cm) | HOJA (cm) | FRUTO (cm) | TALLO (cm) | HOJA (cm) | FRUTO (cm) | |
| 1 | 167 | 10,43 | 4,38 | 175 | 10,67 | 4,8 | 161 | 15,25 | 5,9 | |
| 2 | 125 | 9,67 | 4,78 | 169 | 11,5 | 4,85 | 169 | 15,07 | 5,94 | |
| 3 | 142 | 10,3 | 4,6 | 171 | 10,28 | 4,83 | 164 | 15,24 | 6,22 | |
| 4 | 157 | 8,22 | 4,63 | 163 | 12,6 | 5,54 | 163 | 14,2 | 6 | |
| 5 | 155 | 10,18 | 4,32 | 154 | 11,8 | 5,75 | 167 | 14,68 | 6,13 | |
| 6 | 154 | 8,22 | 4,55 | 162 | 13,73 | 5,18 | 159 | 14,3 | 5,75 | |
| 7 | 172 | 8,67 | 4,43 | 167 | 11,6 | 5,08 | 163 | 14,23 | 5,98 | |
| 8 | 118 | 8,18 | 4 | 173 | 10,48 | 5,86 | 168 | 14,77 | 6,02 | |
| 9 | 176 | 8,45 | 3,92 | 172 | 10,83 | 5,46 | 156 | 14,15 | 5,83 | |
| 10 | 163 | 10,58 | 4,93 | 156 | 13,88 | 5,12 | 167 | 14,9 | 5,92 | |
| 11 | 164 | 8,96 | 4,62 | 165 | 13,84 | 5,42 | 165 | 14,88 | 6,02 | |
| 12 | 153 | 8,47 | 3,97 | 159 | 14,67 | 5 | 169 | 14,75 | 6,32 | |
| 13 | 148 | 8,56 | 4,38 | 167 | 13,08 | 5,28 | 174 | 15,32 | 6,12 | |
| 14 | 158 | 8,6 | 4,76 | 158 | 14,43 | 4,98 | 168 | 15,05 | 6,25 | |
| 15 | 160 | 8,72 | 3,98 | 173 | 14,42 | 5,32 | 176 | 14,98 | 6,03 | |
| 16 | 153 | 9,06 | 4,43 | 172 | 14,58 | 5,28 | 175 | 15,63 | 6,22 | |
| 17 | 156 | 8,98 | 4,23 | 168 | 13,97 | 5,43 | 169 | 14,67 | 6,4 | |
| 18 | 171 | 8,26 | 4,77 | 164 | 14,3 | 5,65 | 172 | 14,88 | 6,05 | |
| 19 | 169 | 8,67 | 4,47 | 171 | 14,67 | 5,68 | 152 | 14,53 | 6,07 | |
| 20 | 165 | 9,02 | 4,22 | 154 | 14,23 | 5,37 | 169 | 14,98 | 6,25 | |
| 21 | 155 | 9,58 | 4,03 | 170 | 14,47 | 5,72 | 164 | 15,05 | 6,05 | |
| 22 | 151 | 8,3 | 4,28 | 156 | 14,45 | 5,82 | 161 | 14,72 | 5,83 | |
| 23 | 142 | 8,77 | 5,06 | 166 | 15,08 | 5,77 | 168 | 14,92 | 5,98 | |
| 24 | 148 | 8,2 | 3,58 | 157 | 13,38 | 6 | 178 | 14,85 | 6,55 | |
| 25 | 165 | 8,98 | 3,93 | 178 | 14,63 | 5,6 | 174 | 14,18 | 6,2 | |
| 26 | 171 | 8,5 | 3,25 | 182 | 14,9 | 5,95 | 179 | 14,85 | 6,27 | |
| PROMEDIO | 156 | 8,94 | 4,33 | 166 | 13,33 | 5,41 | 167 | 14,81 | 6,09 | |

Tabla 4-2: Características morfológicas de la planta

| TOTAL DE PARCELAS EN EL INVERNADERO | 13 |
|-------------------------------------|----------------|
| TOTAL DE PLANTAS POR PARCELA | 230 |
| MUESTRAS CONSIDERADAS POR PARCELA | 26 |
| INTERVALO DE ELECCIÓN | Cada 7 plantas |
| PARCELAS DE ESTUDIO | 1-5-7 |
| MUESTRAS DE SUELO | Aleatorias |

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LAS PLANTAS DE TOMATE RIÑÓN TRAS LA APLICACIÓN DE Bacillus subtilis

TALLO

Se observa el tallo principal de color verde natural, con cierta cantidad de vellosidades a lo largo del mismo y del cual nacen pequeñas ramificaciones en las axilas de las hojas conocidas como tallos secundarios. Es sensible y delicado, motivo por el cual es necesario brindarle soporte a la planta desde sus inicios; los agricultores de la zona realizan este procedimiento sujetando la planta con la ayuda de finas cuerdas para así evitar que esta se rompa o se doble.

La PARCELA 1 presenta tallos con cierta cantidad de pequeños puntos amarillos y unas ligueras manchas de color café, mientras que las PARCELAS 5 Y 7 no presentan alteraciones visibles en el aspecto de su tallo.

| Promedio de la altura del tallo/ PARCELA 1 | 156 cm |
|--|--------|
| Promedio de la altura del tallo/ PARCELA 5 | 166 cm |
| Promedio de la altura del tallo/ PARCELA 7 | 167 cm |

HOJA

Se puede observar con claridad su forma dentada, una base ancha y angosta en el borde superior y, al igual que en el tallo presenta hasta cierto punto vellosidades, su color es verde oscuro en comparación con el tallo, presenta un olor característico.

En la PARCELA 1 ciertas plantas presentan alteraciones con hojas amarillentas decaídas y pequeñas en relación con las otras, sus hojas tienden a cerrarse y, además de ello se distinguen manchas de color amarillo intenso y otras de color negro

Las hojas de la PARCELA 5 son grandes y no presentan características adversas mientras que en la PARCELA 7 se pueden observar hojas grandes, pero con pequeñas perforaciones y manchas de color ca fé muy dispersas en varias plantas.

Para determinar las características y tamaño de las hojas se consideró 6 hojas por cada planta.

| Promedio del tamaño de la hoja/ PARCELA 1 | 8,94 cm |
|---|----------|
| Promedio del tamaño de la hoja/ PARCELA 5 | 13,33 cm |
| Promedio del tamaño de la hoja/ PARCELA 7 | 14,81 cm |

FRUTO

Se puede observar frutos de color verde brilloso, diferente tamaño y distribuidos en tres pisos. De manera general se consideró una planta por parcela para realizar el detalle que se presenta a continuación, mientras que para la obtención de datos si se realizó la toma de datos de las 26 muestras.

PARCELA 1 AL INICIO DE LA PLANTACIÓN (PLANTA #1)

- 1° piso → 4 tomates medianos
- 2° piso → 5 tomates pequeños
- 3° piso → 4 tomates pequeños

PARCELA 5 EN LA MITAD DE LA PLANTACIÓN (PLANTA #115)

- 1° piso → 6 tomates grandes
- 2° piso → 5 tomates medianos
- 3° piso → 5 tomates medianos

PARCELA 7 AL FINAL DE LA PLANTACIÓN (PLANTA #230)

- 1° piso → 5 tomates grandes
- 2° piso → 3 tomates medianos
- 3° piso → 4 tomates pequeños

Con los datos se pretende presentar el promedio del diámetro del fruto con la aplicación de Bacillus subtilis

| Promedio del diámetro del fruto/ PARCELA 1 | 4,33 cm |
|--|---------|
| Promedio del diámetro del fruto/ PARCELA 5 | 5,41 cm |
| Promedio del diámetro del fruto/ PARCELA 7 | 6,09 cm |
| | |

FLOR

Se observa cierta cantidad de flores de color amarillo con partes características: pétalos, estambres y sépalos. Presentan tamaño variado.

RAIZ

Se realizó una perforación en el suelo para observar este sistema, el mismo que está conformado por una raíz grande denominada principal y pequeñas ramificaciones que son las conocidas secundarias.

4.3. Parámetros fisicoquímicos



Ilustración 4-6: Toma de muestras de la Fase diagnóstica

Realizado por: Toapanta, E., 2023



Ilustración 4-7: Toma de muestras después de aplicar el bioinsumo

Realizado por: Toapanta, E., 2023

Tabla 4-3: Parámetros fisicoquímicos del suelo

| REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELO | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|------|------|------|
| Identificación | pН | % | % N | | mg/kg | | | | | cmol/kg | | | |
| de muestra | pii | м. о. | /0 11 | P | Fe | Mn | Cu | Zn | S | В | K | Ca | Mg |
| Fase | 6,73 | 1,09 | 0,05 | 248,1 | 167,6 | 13,88 | 13,19 | 16,43 | 96,72 | 2,77 | 0,91 | 9,68 | 3,01 |
| Diagnóstica | PN | M | В | A | A | M | A | A | A | A | A | A | A |
| Después de la | 7,39 | 2,69 | 0,13 | 288,2 | 219,1 | 22,11 | 23,05 | 32,00 | 59,44 | 2,40 | 1,71 | 12,6 | 3,04 |
| aplicación | PN | A | В | A | A | A | A | A | M | A | A | A | A |

pH M= Medio

PN= Prácticamente neutro Elementos A= Alto

LA= Ligeramente Alcalino B= Bajo

Al realizar el análisis del suelo previo al inicio de la investigación del bioinsumo, se reportó que los parámetros fisicoquímicos de pH eran prácticamente neutros 6,73 y de materia orgánica con un contenido medio de 1,09%. Además, los macronutrientes primarios del suelo como el nitrógeno en un contenido bajo de 0,05%, el potasio y fósforo en un contenido alto de 0,91 cmol/kg y 248,1 mg/kg respectivamente. Por otra parte, los macronutrientes secundarios como el calcio, magnesio y azufre con un contenido alto de 9,68 cmol/kg, 3,01 cmol/kg y 96,72 mg/kg respectivamente. También, los micronutrientes como el hierro, zinc, cobre y boro con un contenido alto de 167,6 mg/kg, 16,43 mg/kg y 2,77 mg/kg respectivamente y con un contenido medio de manganeso de 13,88 mg/kg. Al finalizar la investigación, se pudo identificar que muchas de las variables mejoraron al colocar el bioinsumo como: el pH a 7,39, materia orgánica a un contenido alto de 2,69%, el nitrógeno aumento a 0,13% como el potasio, fósforo, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre y manganeso a 1,71 cmol/kg, 288,2 mg/kg, 12,6 cmol/kg, 3,04 cmol/kg, 219,1 mg/kg, 32 mg/kg, 23,05 mg/kg y 22,11 mg/kg respectivamente. Por otra parte, el azufre y boro disminuyó su concentración a 59,44 mg/kg y 2,40 mg/kg respectivamente.

4.4. Discusión

El bioinsumo de origen microbiano *B. subtilis*, en cuanto a su efecto sobre la planta de tomate riñón (*Lycopersicum esculentum*) en esta investigación, fue considerado biofertilizante debido a que aportó en la productividad, calidad y/o sanidad del cultivo y se aplicó mediante biofertilización foliar, directamente al follaje de la planta cada 15 días; y no fue biopesticida porque, en la Parcela 1 se presentó ciertas alteraciones en el tallo, cantidades pequeñas de puntos amarillos y unas ligueras manchas de color café, y en las hojas hubieron algunas amarillentas, decaídas y pequeñas, en relación con las otras Parcelas 5 y 7 que no presentaron ninguna de estas características fisiológicas. Determinando que la dosis que se colocó en el cultivo no controló las plagas o enfermedades, pero que pudo hacerlo si se lo aplicaba cada 8 días directamente sobre las plantas o el suelo como lo explica Mamani De Marchese y Filippone en su investigación (2018, p. 15); este tipo de aplicación se lo denomina drench que consiste en verter la solución de *Bacillus subtilis* directamente en la base de la planta, en lugar de rociarla sobre las hojas en los pimientos de la investigación de Caza (2021, p. 13), que dio como resultado un control de plagas en este cultivo.

Como se observa en la Tabla 4-1 de altura de los tallos, tamaño de las hojas y diámetro de los frutos de las Parcelas 1, 5 y 7, se puede observar que los promedios de la Parcela 1 tiene una diferencia significativa con las características morfológicas de la Parcela 5 y 7, esto puede ser debido a la plaga que afectó a esta parcela. Por otra parte, los resultados son muy buenos en general, corroborando a que la aplicación del bioinsumo *B. subtilis* como biofertilizante aportó

en la productividad, calidad y/o sanidad del cultivo ya que, su altura se encuentra dentro del rango de 1,5 m a 2 m que menciona Portilla (2022, p. 71). En la investigación de Zambrano (2021, p. 40), concuerda con los resultados de esta investigación acerca de la aplicación de B. subtilis en pepino ya que, menciona que el tratamiento T4 (que utilizó una dosis de 1.5 l/ha) tuvo el diámetro del fruto más alto y se diferenció estadísticamente de los demás tratamientos, incluyendo el testigo que tiene el promedio más bajo en diámetro del fruto. Según Vega (2022, p. 3-4 y 34), que aplicó bioestimulantes a base de B. subtilis en las plantas de tomate riñón, obteniendo un mayor rendimiento (61,9 t/ha), mayor peso, tamaño y color en los frutos, así como mayores utilidades (\$7.428,00). Sin embargo, en cuanto al número de hojas y días a la aparición de la inflorescencia, no tuvo predominio en estas características morfológicas, ya que todos obtuvieron los mismos resultados al igual que el testigo. Por otra parte, en la investigación de Caza (2021, p. 19) tras aplicar B. subtilis en pimiento se determinó que la altura de planta está estrechamente relacionada con las características propias del genotipo y que solamente se ve influenciada por su interacción con las condiciones del medio ambiente, como la temperatura, humedad, manejo del cultivo y calidad de la plántula, más no por la aplicación del bioinsumo. Además, la aplicación de B. subtilis no tuvo un efecto significativo en el número de frutos por planta (Caza, 2021, p. 15). Determinando en la investigación que, el bioinsumo a base de B. subtilis no infiere en las características morfológicas de todos los tipos de cultivo, pero sí en el de tomate de riñon (Lycopersicum esculentum).

Una vez realizado el análisis de suelo antes y después de la aplicación del bioinsumo a base de B. subtilis se observa en la Tabla 4-3, que hubo una ligera variación con respecto al pH que se obtuvo en el análisis de suelo después de aplicar el bioinsumo, con respecto al pH obtenido en la fase de diagnóstico. Lo cual permitió determinar que el pH se mantuvo siempre en un estado prácticamente neutro ya que tuvo 6,73 y 7,39 respectivamente. La información antes mencionada concuerda con lo que indica Corrales et al. (2017, p. 57), en su estudio en el que aplicó B. subtilis como una alternativa de promoción vegetal, en el cual informa que el pH del suelo en presencia de las bacterias del género Bacillus actúan a un pH que va de neutro a básico, lo que le confiere termo-resistencia, por lo que el suelo se mantiene prácticamente neutro porque así los biofertilizantes que están basados en este tipo de bacterias son más eficaces y se desarrollan mejor. En la Tabla 4-3 también se logra observar que hubo un aumento de nitrógeno y fósforo, teniendo en la fase diagnostico valores de 0.05% y 248,1 mg/kg respectivamente, mientras que después de la aplicación del bioinsumo se tuvo el valor 0.13% y 288,2 mg/kg. Este incremento de nitrógeno y fósforo en el cultivo de tomate de riñón (Lycopersicum esculentum), se debe a la presencia de los microorganismos incorporados en el suelo por parte del bioinsumo, lo cual demuestra que la bacteria B. subtilis si interviene en la movilidad del nitrógeno y fósforo en el suelo, pero no pudo ser absorbido por las plantas con eficiencia, ya que puede ser por algún tipo de retención que

podría no haber mejorado su disponibilidad para las plantas. En la investigación de Caza (2021, p. 35) en cambio, al realizarse los análisis de la disponibilidad de fósforo en el suelo antes de la siembra y al finalizar la investigación. En el análisis de suelo pre-siembra se observó un valor de pH neutro y una alta disponibilidad de fósforo con 308 ppm. Al finalizar el experimento, se observó una variación en el pH del suelo, llegando a ser alcalino, y se registró una disminución en la disponibilidad de fósforo en todas las muestras, aunque en menor medida en las muestras inoculadas con *B. subtilis*. En particular, se obtuvo un valor de 260 ppm de fósforo disponible en la muestra de Dosis 0 (0ml/L Testigo), mientras que en las muestras de Dosis 1 (3ml/L) y Dosis 2 (5ml/L) inoculadas con Bacillus subtilis se obtuvo 277.30 y 286.05 ppm, respectivamente. Estos resultados sugieren que la aplicación de *B. subtilis* podría haber ayudado a solubilizar el fósforo en el suelo, lo que podría haber mejorado su disponibilidad para las plantas. Finalmente, por el resto de macronutrientes y micronutrientes analizados, se puede decir que la calidad del suelo es óptima para este tipo de cultivo y que presenta más cantidad de nutrientes después de la aplicación del bioinsumo.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se determinó la calidad del suelo del lugar de estudio, por medio de análisis físico-químicos en la fase diagnóstica antes de la aplicación de *B. subtilis*. El suelo se encontraba en óptimas condiciones para el cultivo de tomate de riñón ya que, se reportó que los parámetros fisicoquímicos de pH eran prácticamente neutros 6,73 contenido de materia orgánica medio de 1,09%. Además, los macronutrientes primarios del suelo como el nitrógeno en un contenido bajo de 0,05%, el potasio y fósforo en un contenido alto de 0,91 cmol/kg y 248,1 mg/kg respectivamente. Por otra parte, los macronutrientes secundarios como el calcio, magnesio y azufre con un contenido alto de 9,68 cmol/kg, 3,01 cmol/kg y 96,72 mg/kg respectivamente. También, los micronutrientes como el hierro, zinc, cobre y boro con un contenido alto de 167,6 mg/kg, 16,43 mg/kg y 2,77 mg/kg respectivamente y con un contenido medio de manganeso de 13,88 mg/kg. Concluyendo, que la aplicación de *B. subtilis* podría mejorar aún más estos valores, debido a las investigaciones similares que fueron fuente importante para el desarrollo de esta investigación.
- Se empleó *Bacillus subtilis* en cultivos de tomate riñón bajo condiciones de invernadero con la utilización de un rociador de mochila. Lo que dio como resultado aplicativo que, el bioinsumo fue un biofertilizante que ayudó a la producción, calidad y/o salinidad de fruto. Sin embargo, pudo ser considerado también biopesticida para controlar plagas y enfermedades, pero debido a su aplicación cada 15 días y mediante biofertilización foliar no pudo de esta manera beneficiar a la Parcela 1 que presento alteraciones en sus características fisiológicas como: cantidades pequeñas de puntos amarillos y unas ligueras manchas de color café en los tallos, y en las hojas hubo algunas amarillentas, decaídas y pequeñas, en relación con las otras
- Se evaluó las características morfológicas del tomate riñón después de la aplicación de *B. subtilis* concluyendo que, el bioinsumo influyó en la altura que se encuentra dentro del rango de 1,5 m a 2 m que menciona Portilla. Y en relación a otras investigaciones el *B. subtilis* no infiere en las características morfológicas de todos los tipos de cultivo, pero sí en el de tomate de riñón (*Lycopersicum esculentum*).

Al comparar las características del suelo entre la fase diagnóstica y la aplicación de *Bacillus subtilis* para determinar la calidad del suelo, se obtuvo una ligera variación con respecto al pH, lo cual permitió determinar que el pH se mantuvo siempre en un estado prácticamente neutro ya que tuvo 6,73 y 7,39 respectivamente. También obtuvo un aumento de nitrógeno y fósforo, teniendo en la fase diagnostico valores de 0.05% y 248,1 mg/kg respectivamente, mientras que después de la aplicación del bioinsumo se tuvo el valor 0.13% y 288,2 mg/kg. Este incremento de nitrógeno y fósforo en el cultivo de tomate de riñón (*Lycopersicum esculentum*), se debe a la presencia de los microorganismos incorporados en el suelo por parte del bioinsumo, lo cual demuestra que la bacteria *B. subtilis* si interviene en la movilidad del nitrógeno y fósforo en el suelo, pero no pudo ser absorbido por las plantas con eficiencia, ya que puede ser por algún tipo de retención que podría no haber mejorado su disponibilidad. Concluyendo, por el resto de macronutrientes y micronutrientes analizados, se puede decir que la calidad del suelo es óptima para este tipo de cultivo y que presenta más cantidad de nutrientes después de la aplicación del bioinsumo.

5.2. Recomendaciones

- Aplicar el bioinsumo *B. subtilis* cada 8 días y no únicamente de manera foliar sino también directamente al suelo con el método drench.
- Se recomienda realizar análisis de suelo antes de la aplicación de cualquier biofertilizante con el fin de conocer las concentraciones de nutrientes que se encuentran presentes y en base a ello, empezar una mejora.
- Se recomienda antes de la utilización del rociador de mochila revisar que se haya diluido completamente el sustrato para evitar así posibles taponamientos y daños en el equipo.
- Se recomienda para la activación del biofertilizante la utilización de suero de leche.
- Se recomienda durante la etapa de elaboración del biofertilizante una total asepsia para evitar la contaminación del sustrato.
- Se recomienda el acompañamiento de un técnico o persona encargada que guie a los agricultores con el uso de biofertilizantes para potencializar su aplicación y obtener mejores resultados.
- Se recomienda realizar un estudio enfocado a la comparación con una parcela testigo y

adicional, el cálculo en utilidad comparando a los gastos que genera a la producción común con químicos.

- Se recomienda el trabajo conjunto con las entidades gubernamentales a fin de brindar apoyo necesario a los agricultores y con ello un mejor desenvolvimiento de los mismos en el área.

BIBLIOGRAFÍA

ACUERDO MINISTERIAL N° 28. SUSTITÚYESE EL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA. 2015. Quito Ecuador: s.n. 2015.

ACUERDO Nº 365 -. Reglamento Interministerial para el saneamiento ambiental agricola. / [en línea]. 2014. S.l.: s.n. 2014. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: https://www.informea.org/es/node/334401.

ALTAMIRANO, Elizabeth. "PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS PARA LADETERMINACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS SUELOS EN LAMICROCUENCA JUN-JUN"... Cevallos: 2019.

BONILLA, Angel. "Comportamiento agronomico de seis variedades de reygrass (Lolium multiflorum- Lolium perenne) con una fertilizacion quimica en el canton Salcedo". S.1.: UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO. 2013.

CABEZAS, Carlos & GUEVARA, Juan. ""CALIDAD DEL SUELO MEDIANTE INDICADORES FÍSICOS, QUÍMICOS YBIOLÓGICOS EN SUELOS BAJO PÁRAMO, PASTO Y CULTIVO, PARROQUIA ACHUPALLAS PROVINCIA DE CHIMBORAZO"". . Riobamba: 2020.

CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ CCB. "Manual Tomate". Programa De Apoyo Agrícola Y Agroindustrial Vicepresidencia De Fortalecimiento Empresarial Cámara De Comercio De Bogotá, (2015), pp. 1-56. ISSN 10026819.

CAMPAÑA, Andrea. IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR MEDIANTE PCR ENTIEMPO REAL DE DOS BACTERIAS DEL GÉNERO Bacillus, DE INTERÉSAGROBIOTECNOLÓGICO. Quito: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO. 2018.

CAZA, Nancy. Efecto de la aplicación de tres dosis de Bacillus subtilis en dos híbridos de pimiento (Capsicum annuum L.) bajo invernadero. S.l.: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. 2021.

CHIRIBOGA, Hernán et al. "Trichoderma spp. Para el control biológico de enfermedades".

Biomass [en línea], (2015), pp. 1-28. Disponible en: https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf?sequence=1. COMISIÓN DE LEGISLACIÓN Y CODIFICACIÓN. Ley de Desarrollo Agrario. 2004. S.l.: s.n. 2004.

CORRALES, Lucía et al. "Bacillus spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos". *Nova*, vol. 15, no. 27, (2017), pp. 45-65. ISSN 1794-2470. DOI 10.22490/24629448.1958.

CUEVA, Angélica. "Determinación físico - química de un suelo en dos sistemas de labranza ytres niveles de fertilización en maíz (Zea mays L.).". . Quito: 2019.

DÍAZ, T. & HERNÁNDEZ, D.A. "Comportamiento de la germinación de semillas de tomate tratadas con cloro (Cl)". *Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova* [en línea], (2003), pp. 63-66. Disponible en: https://aprenderly.com/doc/1558945/comportamiento-de-lagerminación-de-semillas-de-tomate-tr.

ESCOBAR, Hugo & LEE, Rebecca. *Manual de producción de tomate bajo invernadero* [en línea]. Bogotá: s.n. 2009. [Consulta: 16 mayo 2023]. ISBN 978-958-725-025-1. Disponible en: https://www.utadeo.edu.co/sites/tadeo/files/node/publication/field_attached_file/pdf-manual_produccion_de_tomate_-_pag.-_web-11-15.pdf.

FAO. "Agricultura sostenible: Una herramienta para fortalecer la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el Caribe". . S.l.: 2016.

FAO. "Portal de Suelos de la FAO, Propiedades Químicas". . 2023.

GORINI, Fausto. Guía completa del cultivo del tomate. S.1.: s.n. 2018.

GUTIÉRREZ, A. et al. "Efectos de Bacillus subtilis cepas GBO3 y IN937b en el crecimiento de maíz (Zea mays L.)". *Polibotánica*, vol. 0, no. 53, (2022), pp. 211-218. DOI 10.18387/polibotanica.53.14.

HAIFA GROUP. "Crop Guide: Tomato Fertilizer Recommendations". [en línea]. 2018. [Consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: https://www.haifa-group.com/tomato-fertilizer.

JARAMILLO, Jorge et al. Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de

Tomate Bajo Condiciones Protegidas. S.l.: s.n. 2007. ISBN 9789253058334.

JIMÉNEZ, Catalina. Uso de Agroquímicos en el cultivo de papa y la contaminación del suelo agrícola en el Distrito de Chinchero, Cusco, Perú [en línea]. S.l.: Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2022. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/344.

LÓPEZ, Carmen. Efecto de la aplicación de tres dosis de Bacillus subtilis en dos variedades de lechuga. S.l.: s.n. 2022.

LÓPEZ, Ligia. Manual técnico del cultivo de tomate Solanum lycopersicum. Costa Rica: Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. 2016. ISBN 9789968586276.

MAMANI DE MARCHESE, A. & FILIPPONE, ; M P. "Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible Bio-products: key components of sustainable agriculture". Rev. Agron. Noroeste Argent., (2018).

MENDOZA, David. "CONTROL DE ÁCAROSMEDIANTE LA APLICACIÓNDE Bacillus subtilis EN EL CULTIVO DE FRESA (Fragariavesca)". Cevallos: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS. 2016.

MERA, Cynthia & VALLE, María. Valorización ambiental y social de bioinsumos dentro de una agricultura sustentable en el Gad Parroquial de Ayora, cantón Cayambe. Quito: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO. 2019.

ONU. DECLARACIÓN DE RÍO DE JANEIRO [en línea]. 1992. Río de Janeiro: s.n. 1992. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: http://siga.jalisco.gob.mx/assets/documentos/tratadosint/declarario_92.htm.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. FRUTAS Y HORTALIZAS. S.I.: s.n. 2021.

PDYOT. "Plan de desarrollo y Ordenamiento Territorial parroquia San Luis". . S.l.: 2015.

PORTILLA, Karla. Evaluación del biocontrolador Bacillus subtilis Cohn en el cultivo de tomate riñón (Lycopersicum esculentum Mill), en Lita – Imbabura. [en línea]. Tulcán: Universidad Politécnica Estatal del Carchi. 2022. [Consulta: 15 mayo 2023]. Disponible en:

http://190.15.129.74/bitstream/123456789/1677/1/439- PORTILLA TERRAZA KARLA LIZETH.pdf.

REGISTRO OFICIAL 449. CONSTITUCION DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR [en línea]. 2008. S.l.: Decreto Legislativo 0. 2008. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: www.lexis.com.ec.

REGISTRO OFICIAL EDICIÓN ESPECIAL 2. Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente [en línea]. 29 marzo 2017. S.l.: Decreto Ejecutivo 3516. 2017. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: www.lexis.com.ec.

REGISTRO OFICIAL SUPLEMENTO 303. Código Orgánico Organización Territorial Autonomía Descentralización [en línea]. 21 mayo 2018. S.l.: Ley 0. 2018. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: https://www.oas.org/juridico/pdfs/mesicic4_ecu_org.pdf.

REGISTRO OFICIAL SUPLEMENTO 315. LEY DE COMERCIALIZACION Y EMPLEO DE PLAGUICIDAS [en línea]. 16 abril 2004. S.l.: Codificación 11. 2004. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: www.lexis.com.ec.

REGISTRO OFICIAL SUPLEMENTO 418. LEY DE GESTION AMBIENTAL, CODIFICACION [en línea]. 10 septiembre 2004a. S.l.: Codificación 19. 2004. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: www.lexis.com.ec.

REGISTRO OFICIAL SUPLEMENTO 418. LEY DE PREVENCION Y CONTROL DE LA CONTAMINACION AMBIENTAL [en línea]. 10 septiembre 2004b. S.l.: Codificación 20. 2004. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/LEY-DE-PREVENCION-Y-CONTROL-DE-LA-CONTAMINACION-AMBIENTAL.pdf.

REGISTRO OFICIAL SUPLEMENTO 423. LEY ORGANICA DE SALUD [en línea]. 18 diciembre 2015. S.l.: Ley 67. 2015. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: www.lexis.com.ec.

REINOSO, Elizabeth. ""ANÁLISIS DE LA CALIDAD AMBIENTAL DEL SUELO DE LAPLANTACIÓN DE PALMA AFRICANA (Elaeis guineensis) EN LAPARROQUIA SAN CARLOS, CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS, PROVINCIA DE ORELLANA"". Riobamba: 2018.

RODRÍGUEZ, Diana et al. "Extractos de plantas del semidesierto en la inducción del crecimiento de tomate (Lycopersicum esculentum Mill)". *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, vol. 7, no. 1, (2020). ISSN 2007-9028. DOI 10.19136/era.a7n1.2342.

ROJAS, Natalia. Evaluación de dos residuos pecuarios en la elaboración de un biofertilizante empleando fermentación anaerobia. S.l.: s.n. 2020.

VEGA, Karla. Evaluación de dos bioestimulantes en el desarrollo vegetativo de tomate riñon (Lycopersicum esculentum) en la parroquia Eloy Alfaro, cantón Latacunga. S.l.: Universidad Técnica de Ambato. 2022.

ZAMBRANO, Leonardo. Efecto del Bacillus subtilis usado como protectante en el control de enfermedades en el cultivo de pepino (Cucumis sativus), la Troncal, Cañar. S.l.: Universidad Agraria del Ecuador. 2021.

ANEXO A: ENTREVISTA CON EL DUEÑO DEL INVERNADERO, VISITA AL ÁREA DE ESTUDIO UBICADO EN LA COMUNIDAD DE MONJAS TUNSHI.





RESULTADOS INICIALES DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUÍMICOS ANEXO B: DEL SUELO DE ESTUDIO

| | LABORATORIO DE SUELOS, FOLIARES Y AGUAS Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del | PGT/SFA/09-FO01 |
|--|--|-----------------|
| AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZODSANITARIO | MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 023828860 Ext. 2080 | Rev. 5 |
| CONTROL FILO Y 2003ANII ARIO | INFORME DE ANÁLISIS DE SUELO | Hoja 1 de 2 |

Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación Nº SAE LEN 09.003

Informe N*: LN-SFA-E22-2016 Fecha emisión Informe: 20/12/2022

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante¹: Elsa Zulema Toapanta Paredes

Teléfono1: 0998243355

Dirección¹: Emilio Estrada y Aurelio Mosquera Correo Electrónico1:

elsa.toapanta1002@gmail.com

Cantón1: Nº Orden de Trabajo: 06-2022-133 Provincia1: Chimborazo N* Factura/Documento: 010-001-000003341

Riobamba

DATOS DE LA MUESTRA:

| Tipo de muestra ¹ : Suelo | Conservación de la muestra: Lugar fresco y seco | | | |
|--|---|----------|--|--|
| Cultivo1: | | | | |
| Provincia1: Chimborazo | | X: | | |
| Cantón¹: Riobamba | Coordenadas1: | Y: | | |
| Parroquia ¹ : San Luis | | Altitud: | | |
| Muestreado por¹: Elsa Toapanta | | | | |
| Fecha de muestreo ¹ : 05-12-2022 Fecha de inicio de análisis: 07-12-2 | | | | |
| Fecha de recepción de la muestra: 07-12-2022 | Fecha de finalización de análisis: 20-12-2022 | | | |

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

| CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO | DE CAMPO DE LA MUESTRA ¹ | PARÁMETRO ANALIZADO | MÉTODO | UNIDAD | RESULTADO | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--|---------------------|---------------------------------|---------|-----------|--|--|--|-----------|---------------------------------|---------|-------|---------------------------------|-------|-------|--|--|--------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------|
| | | pH a 25 °C | Electrométrico PEE/SFA/06 | | 6,73 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Materia Orgánica* | Volumétrico PEE/SFA/09 | % | 1,09 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Nitrógeno* | Volumétrico PEE/SFA/09 | % | 0,05 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Fósforo* | Colorimétrico PEE/SFA/11 | mg/kg | 248,1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | MUESTRA 01 M01 | Potasio* | Absorción Atómica PEE/SFA/12 | cmol/kg | 0,91 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Calcio* | Absorción Atómica PEE/SFA/12 | cmol/kg | 9,68 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SFA-22-2376 | | | | | | | | | Magnesio* | Absorción Atómica PEE/SFA/12 | cmol/kg | 3,01 | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Hierro* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg | 167,6 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Manganeso* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | Cobre* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg | 13,19 | |
| | | | | | | | | | | | | Zinc* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg | 16,43 | | | | | | | |
| | | Boro* | Colorimétrico PEE/SFA/17 | mg/kg | 2,77 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Azufre* | Turbidimétrico PEE/SFA/16 | mg/kg | 96,72 | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial de este informe.

¹ Datos suministrados por el cliente: el laboratorio no se responsabiliza por esta información.

ANEXO C: RESUTADOS FINALES DE LOS PARÁMETROS FISICO-QUIMICOS DEL SUELO DE ESTUDIO.

| | LABORATORIO DE SUELOS, FOLIARES Y AGUAS Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del | PGT/SFA/09-FO01 | |
|--|--|-----------------|--|
| AGROCALIDAD AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL PITO Y ZOOSANITARIO | MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 023828860 Ext. 2080 | Rev. 5 | |
| COMINGE PILOT 2000 ANII ANIO | INFORME DE ANÁLISIS DE SUELO | Hoja 1 de 2 | |

Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación Nº SAE LEN 09.003

Informe N*: LN-SFA-E23-1186 Fecha emisión Informe: 24/05/2023

DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante¹: Elsa Zulema Toapanta Paredes

Dirección¹: Emilio Estrada y Aur. Mosqu.

Teléfono¹: 0998243355

Correo Electrónico1: elsa.toapanta1002@gmail.com

Provincia¹: Chimborazo Cantón¹: Riobamba N° Orden de Trabajo: 06-2023-052 N° Factura/Documento: 010-001-3467

DATOS DE LA MUESTRA:

| Tipo de muestra¹: Suelo | Conservación de la muestra: Lugar fresco y seco | | | |
|--|---|---|--|--|
| Cultivo1: | | | | |
| Provincia1: Chimborazo | | X: | | |
| Cantón¹: Riobamba | Coordenadas1: | Y: | | |
| Parroquia ¹ : San Luis | | Altitud: | | |
| Muestreado por¹: Elsa Toapanta | | | | |
| Fecha de muestreo1: 09-05-2023 | Fecha de inicio de análisis: 11-05-2023 | | | |
| Fecha de recepción de la muestra: 11-05-2023 | Fecha de finaliz | Fecha de finalización de análisis: 24-05-2023 | | |

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

| CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO | IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA ¹ | PARÁMETRO ANALIZADO | мёторо | UNIDAD | RESULTADO | | |
|-------------------------------------|--|---------------------------------|---|---------------------------|---------------------------|------|------|
| | | pH a 25 °C | Electrométrico PEE/SFA/06 EPA 9045D | - | 7,39 | | |
| | | | | Materia Orgánica* | Volumétrico PEE/SFA/09 | % | 2,69 |
| | | | Nitrógeno* | Volumétrico PEE/SFA/09 | % | 0,13 | |
| | | Fásforo* | Colorimétrico PEE/SFA/11 | mg/kg | 288,2 | | |
| | | Potasio* | Absorción Atómica PEE/SFA/12 | cmol/kg | 1,71 | | |
| | | Calcio* | Absorción Atómica PEE/SFA/12 | cmol/kg | 12,59 | | |
| Muestra 01 | Magnesio* | Absorción Atómica PEE/SFA/12 | cmol/kg | 3,04 | | | |
| SFA-23-1247 | M01 | Hierro* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg | 219,1 | | |
| | | Manganeso* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg | 22,11 | | |
| | | Cobre* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg | 23,05 | | |
| | | Zinc* | Absorción Atómica PEE/SFA/13 | mg/kg | 32,00 | | |
| | | Conductividad Eléctrica* | Conductimetro PEE/SFA/08 | dS/m | 0,504 | | |
| | | Boro* | Colorimétrico PEE/SFA/17 | mg/kg | 2,40 | | |
| | | Azufre* | Turbidimétrico PEE/SFA/16 | mg/kg | 59,44 | | |
| | | Humedad* | Gravimétrico PEE/SFA/24 | % | 21,58 | | |

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción parcial de este informe.

¹ Datos suministrados por el cliente: el laboratorio no se responsabiliza por esta información.



UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 17 / 08 / 2023

| INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S) | | |
|---|--|--|
| Nombres - Apellidos: Elsa Zulema Toapanta Paredes | | |
| INFORMACIÓN INSTITUCIONAL | | |
| Facultad: Ciencias | | |
| Carrera: Ingeniería en Biotecnología Ambiental | | |
| Título a optar: Ingeniera en Biotecnología Ambiental | | |
| f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo | | |
| | | |

1672-DBRA-UPT-2023

