



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE QUITO  
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Bacillus* spp. EN EL CONTROL DE *Colletotrichum* spp. EN  
FRUTOS DE *Solanum betaceum* EN LA FASE DE POST COSECHA.**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:  
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTOR: MARÍA SOLEDAD GAROFALO CEPEDA**

**TUTOR: RAMIRO DANIEL ACURIO VÁSCONEZ**

**Quito-Ecuador**

**2026**

## **CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, María Soledad Garofalo Cepeda con documento de identificación N° 1724860950 manifiesto que:

Soy autora y responsable del presente trabajo; y autorizo que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 27 de febrero de 2026

Atentamente,



-----  
María Soledad Garofalo Cepeda  
1724860950

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, María Soledad Garofalo Cepeda con documento de identificación No. 1724860950 expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: "Evaluación de cepas de *Bacillus* spp. en el control de *Colletotrichum* spp. en frutos de *Solanum betaceum* en la fase de post cosecha", el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 27 de febrero de 2026

Atentamente,



-----  
María Soledad Garofalo Cepeda  
1724860950

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Ramiro Daniel Acurio Vásconez con documento de identificación N°1714819495, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACIÓN DE CEPAS DE *BACILLUS* SPP. EN EL CONTROL DE *COLLETOTRICHUM* SPP. EN FRUTOS DE *SOLANUM BETACEUM* EN LA FASE DE POST COSECHA, realizado por María Soledad Garofalo Cepeda con documento de identificación N° 1724860950, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 27 de febrero de 2026

Atentamente,



-----  
Msc. Ramiro Daniel Acurio Vásconez

1714819495

## Dedicatoria

A mis padres, por ser el pilar fundamental de mi vida, por enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo es la clave del éxito. Todo lo que soy se lo debo a su amor incondicional y al sacrificio de su crianza. A mis hermanos, cuyo ejemplo, me han demostrado que la valentía, la responsabilidad y la resiliencia, se pueden resolver los conflictos más grandes.

A David, por su paciencia infinita durante este proceso, las noches de desvelo, el apoyo incondicional y por ser mi refugio en los momentos de frustración. Gracias por acompañarme en este camino que fue tan importante para mí.

A todas las mujeres científicas del pasado que abrieron camino en silencio, a mis colegas cuya resiliencia y rigor intelectual han sido mi mayor inspiración durante este proceso y a las niñas que sueñan con laboratorios. Que nunca falte el espacio para nuestras voces en la academia.

María Soledad Garofalo Cepeda

## Agradecimiento

A la Universidad Politécnica Salesiana, mi casa de estudios, por abrirme las puertas y permitirme formar parte profesionalmente en sus aulas y laboratorios

Un agradecimiento profundo y especial a mi tutor, Msc. Daniel Acurio, por su guía, su paciencia y compartir conmigo su visión científica. Su exigencia y consejos fueron fundamentales para el desarrollo de esta investigación.

A los técnicos de laboratorio, por su apoyo técnico, su disposición, por facilitarme el manejo de los equipos y su experiencia como profesionales. Su labor diaria fue pieza clave para que esta tesis se llevara a cabo con éxito.

A mi familia, por ser mi motor. Gracias por sus palabras de aliento en los momentos de mayor cansancio y por creer en mí. A mi pareja, David, por acompañarme en este proceso, por su comprensión, su apoyo, por su amor y por ser mi equilibrio en los días más difíciles.

A mis amigos y compañeros de clase, con quienes compartí no solo el salón de clase y laboratorios, sino también dudas, risas y retos. Gracias por hacer de este camino académico e investigativo fueran ligeras, divertidas y enriquecedoras.

María Soledad Garofalo Cepeda

## Resumen

La antracnosis es una de las principales enfermedades postcosecha que afecta a los frutos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), generando pérdidas económicas significativas en la producción y comercialización de esta especie de importancia agrícola en Ecuador. Esta enfermedad es causada por hongos del género *Colletotrichum*, los cuales presentan una alta capacidad de infección, latencia y resistencia a fungicidas químicos convencionales, lo que ha incrementado la necesidad de alternativas sostenibles y ambientalmente amigables para su control. En este contexto, el control biológico mediante microorganismos antagonistas surge como una estrategia viable para reducir el uso de agroquímicos y preservar la calidad del fruto durante la fase de postcosecha.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficacia de diferentes cepas de *Bacillus* spp. en el control de *Colletotrichum* spp. en frutos de *Solanum betaceum* durante la postcosecha, así como analizar su efecto sobre la calidad fisicoquímica del fruto y la sobrevivencia bacteriana bajo condiciones de almacenamiento. Para ello, se realizaron ensayos experimentales *in vivo*, en los cuales los frutos fueron inoculados con el patógeno y tratados de forma preventiva y curativa con cepas seleccionadas de *Bacillus* spp. Se evaluaron variables fitopatológicas como incidencia y severidad de la antracnosis, además de parámetros de calidad del fruto, incluyendo firmeza, pérdida de peso, sólidos solubles totales, pH y acidez titulable.

Los resultados demostraron que determinadas especies de *Bacillus* spp., especialmente *Bacillus megaterium*, lograron reducir significativamente la incidencia y severidad de la enfermedad en comparación con el control químico mostrando una eficacia comparable o superior a los tratamientos químicos. Asimismo, la aplicación de estas cepas no afectó negativamente la calidad fisicoquímica de los frutos durante el almacenamiento y evidenció una adecuada sobrevivencia bacteriana en la superficie del fruto.

En conclusión, el uso de *Bacillus* spp. representa una alternativa biológica prometedora para el manejo postcosecha de la antracnosis en tomate de árbol, contribuyendo al desarrollo de sistemas agrícolas más sostenibles, seguros y respetuosos con el medio ambiente.

**Palabras clave:**

Control biológico, postcosecha, antracnosis, microorganismos antagonistas, calidad del fruto, agricultura sostenible.

## Abstract

Anthracnose is one of the most important postharvest diseases affecting tree tomato (*Solanum betaceum*) fruits, causing significant economic losses in production and commercialization, particularly in Ecuador. This disease is mainly caused by fungi of the genus *Colletotrichum*, which exhibit high infective capacity, latent behavior, and increasing resistance to conventional chemical fungicides. These limitations have driven the search for sustainable and environmentally friendly alternatives to manage postharvest diseases. In this context, biological control using antagonistic microorganisms has emerged as an effective strategy to reduce chemical inputs while preserving fruit quality.

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of different *Bacillus* spp. strains in controlling *Colletotrichum* spp. in postharvest *Solanum betaceum* fruits, as well as to assess their influence on fruit physicochemical quality and bacterial survival during storage. Experimental *in vivo* assays were conducted, in which healthy fruits were artificially inoculated with the pathogen and treated with selected *Bacillus* spp. strains under preventive and curative applications. Disease-related variables such as incidence and severity of anthracnose were evaluated, along with fruit quality parameters including firmness, weight loss, total soluble solids, pH, and titratable acidity.

The results indicated that specific *Bacillus* spp. strains, particularly *Bacillus megaterium*, significantly reduced disease incidence and severity compared to the pathogen control, showing performance comparable to or better than chemical treatments. Moreover, the application of *Bacillus* spp. did not negatively affect the physicochemical quality of the fruits during storage and demonstrated satisfactory bacterial survival on the fruit surface.

These findings suggest that *Bacillus* spp. constitute a promising biological alternative for the postharvest management of anthracnose in tree tomato, contributing to the development of sustainable agricultural practices, reducing environmental impact, and promoting food safety.

**Keywords:**

Biological control, postharvest disease, anthracnose, antagonistic bacteria, fruit quality, sustainable agriculture.

## Contenido

<b>1</b>	<b>Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Fundamentación teórica.....</b>	<b>6</b>
2.1	<b>Tomate de Árbol (<i>Solanum betaceum</i>). .....</b>	<b>6</b>
2.1.1	<b>Origen y Distribución Geográfica. ....</b>	<b>6</b>
2.1.2	<b>Importancia Económica y Agrícola.....</b>	<b>7</b>
2.1.3	<b>Características Taxonómicas y Botánicas. ....</b>	<b>8</b>
2.1.4	<b>Principales Enfermedades.....</b>	<b>8</b>
2.1.5	<b>Antracnosis y su Impacto.....</b>	<b>9</b>
2.2	<b><i>Colletotrichum</i> spp. Hongo Fitopatógeno .....</b>	<b>10</b>
2.2.1	<b>Características Principales (Macroscópicas y Microscópicas) .....</b>	<b>11</b>
2.2.2	<b>Condiciones de Desarrollo.....</b>	<b>13</b>
2.2.3	<b>Ciclo de Vida .....</b>	<b>14</b>
2.2.4	<b>Mecanismos de patogenicidad .....</b>	<b>14</b>
2.2.5	<b>Principales especies afectadas por <i>Colletotrichum</i> spp en Ecuador .....</b>	<b>15</b>
2.2.6	<b>Estrategias de Control.....</b>	<b>15</b>
2.3	<b><i>Bacillus</i> spp. ....</b>	<b>16</b>
2.3.1	<b>Características el Género .....</b>	<b>16</b>
2.3.2	<b>Características Macroscópicas y Microscópicas .....</b>	<b>16</b>
2.3.3	<b>Condiciones de Desarrollo.....</b>	<b>18</b>
2.3.4	<b>Ciclo de Vida .....</b>	<b>18</b>
2.3.5	<b>Diversidad de Genética.....</b>	<b>19</b>
2.3.6	<b>Mecanismo de Biocontrol.....</b>	<b>19</b>
2.3.7	<b>Interacción Antagónica con <i>Colletotrichum</i> spp.....</b>	<b>19</b>
2.3.8	<b>Ventaja del Control Biológico: Impacto y Ambiental. ....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>Materiales y métodos.....</b>	<b>21</b>
3.1	<b>Preparación y ajuste de suspensión de esporas de <i>Colletotrichum</i> spp. ....</b>	<b>22</b>
3.2	<b>Inoculación de <i>Colletotrichum</i> spp.....</b>	<b>23</b>
3.3	<b>Preparación y ajuste de cultivo de <i>Bacillus</i> spp. ....</b>	<b>25</b>
3.4	<b>Aplicación de <i>Bacillus</i> spp. en frutos.....</b>	<b>26</b>
3.5	<b>Almacenamiento de los frutos .....</b>	<b>26</b>
3.6	<b>Análisis Microbiológico .....</b>	<b>27</b>
3.6.1	<b>Análisis de sobrevivencia de <i>Bacillus</i> spp. en fruto .....</b>	<b>27</b>
3.7	<b>Análisis Físicoquímico .....</b>	<b>27</b>
3.7.1	<b>Análisis de textura del fruto (firmeza).....</b>	<b>27</b>
3.7.2	<b>Obtención del jugo.....</b>	<b>28</b>

3.7.3	Contenido de sólidos solubles totales (°Brix).....	29
3.7.4	Determinación de pH.....	29
3.7.5	Determinación de acidez titulable .....	29
3.8	Escala de Severidad de Antracnosis en <i>Solanum betaceum</i> .....	30
3.9	Incidencia de la enfermedad .....	31
3.10	Análisis estadístico .....	31
4	Resultados y discusión.....	33
4.1	Inhibición de <i>Colletotrichum</i> spp .....	33
4.1.1	Incidencia.....	33
4.1.2	Severidad .....	35
4.2	Sobrevivencia de <i>Bacillus</i> spp. ....	38
4.3	Pérdida de peso (%).....	40
4.4	Firmeza del fruto.....	42
4.5	Contenido de solidos solubles (Brix).....	45
4.6	Acidez titulable.....	47
4.7	pH .....	51
5	Recomendaciones.....	56
6	Bibliografía.....	57

## Índice de figuras

<i>Figura 1. Antracnosis en tomate de árbol (S. Betaceum)</i> .....	9
<i>Figura 2. Colletotrichum spp en medio PDA expuesto a 12 horas luz</i> .....	12
<i>Figura 3. Esporas de Colletotrichum spp en microscopio</i> .....	13
<i>Figura 4. Cultivo de Bacillus megaterium en NA</i> .....	17
<i>Figura 5. Endosporas de Bacillus megaterium en tinción gram</i> .....	18
<i>Figura 6. Recipiente de Almacenamiento</i> .....	24
<i>Figura 7. Escala de Severidad de Antracnosis</i> .....	31

## Índice de tablas

<i>Tabla 1. Tratamientos, cepas de Bacillus spp y tipos de tratammientos aplicados para los días 5 y 8</i> .....	21
<i>Tabla 2. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Incidencia entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis</i> .....	34
<i>Tabla 3. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Severidad entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis</i> .....	37
<i>Tabla 4. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Supervivencia entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis</i> .....	39
<i>Tabla 5. Resultados media y D. E. (Desviación estándar) y p-valor de Pérdida de peso (%) para los días 5 y 8, con tres repeticiones cada día en ANOVA</i> .....	42
<i>Tabla 6. Resultados media y D. E. (Desviación estándar) y p-valor de Firmeza para los días 5 y 8, con tres repeticiones cada día en ANOVA</i> .....	44
<i>Tabla 7. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Contenido de solidos solubles (Brix) entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis</i> .....	46
<i>Tabla 8. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Acidez (%) entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis</i> .....	49
<i>Tabla 9. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor de la variable de pH entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis</i> .....	52

Índice de ecuaciones

*Formula 1. Cálculo de concentración*.....21

*Formula 2. Conteo Unidades Formadoras de Colonias*.....23

## 1 Introducción

La agricultura es una de las bases de la sociedad, la producción de alimentos sustenta las economías y las comunidades de los sectores rurales y urbanos. Un pilar fundamental de este sistema son los productores primarios, quienes, con su labor no solo alimentan a sus familias, sino también a la población en general. Este esfuerzo impulsa la economía local, asegura empleos y promueve el desarrollo de las zonas rurales (Armas-Vega et al., 2023)

En Ecuador, el cultivo de frutos de *S. betaceum* representa una fuente de ingresos significativa tanto para grandes y pequeños productores rurales. La producción de esta fruta ha ido en aumento cada año, con una creciente demanda de productos orgánicos frescos, sobre todo en países desarrollados donde no se produce esta fruta o no es viable, reportándose exportaciones de 85 toneladas en 2022 y 142 toneladas en 2023 (Calapiña, 2022).

Uno de los requisitos más importantes para que el producto pueda ser exportado es garantizar que la fruta provenga de sitios certificados y que se encuentre libre de enfermedades. En este contexto se requiere de personas y técnicos capacitados que monitoreen permanentemente los cultivos para reducir la alta susceptibilidad a enfermedades siendo la antracnosis la enfermedad que más afecta al cultivo (Armas-Vega et al., 2023). Por este motivo, el desarrollo de nuevas técnicas agrícolas tanto de mantenimiento como de producción es valioso. El uso de biorremediadores y/o biocontroladores, junto con sistemas de rotación de cultivos, puede abordar estas problemáticas, asegurando la conservación del medio ambiente y los ecosistemas naturales para futuras generaciones (Santos et al., 2023).

Como ya se mencionó anteriormente *Colletotrichum* es un fitopatógeno que afecta a una gran variedad de cultivos agrícolas y está ampliamente distribuido a nivel mundial. Este patógeno es responsable de la antracnosis, una enfermedad que causa lesiones hundidas y oscuras en órganos aéreos de la planta, comprometiendo la calidad y rendimiento de los

cultivos agrícolas. Las esporas de *Colletotrichum* spp. se dispersan fácilmente en el aire favoreciendo la contaminación de fuentes de agua y herramientas y su germinación se incrementa en condiciones de temperaturas cálidas y alta humedad (Souza et al., 2023).

Este hongo es potencialmente peligroso debido a su capacidad de permanecer latente en los tejidos vegetales postcosecha y en el suelo. Bajo condiciones favorables, puede desatar epifitias difíciles de controlar. La antracnosis en la planta de *Solanum betaceum* es causado por el género *Colletotrichum*, provoca lesiones con manchas negras y hundidas en la fruta, en hojas, tallos y ramas, en otros casos puede causar pudrición en la raíz, frutos por necrosis. Además, el uso reiterado de fungicidas químicos ha llevado al desarrollo de resistencia en el patógeno, agravando el impacto ambiental y sanitario (Romero et al., 2022). Representando así pérdidas económicas significativas en la producción de frutos de *S. betaceum* (Armas-Vega et al., 2023).

En este contexto, los biocontroladores surgen como una alternativa eficaz y amigable con el medio ambiente. Estas herramientas son esenciales para implementar alternativas sustentables a largo plazo adaptándose a las condiciones de producción de los agricultores y contribuyendo a la mitigación del impacto de *Colletotrichum* en el cultivo de tomate de árbol, sobre todo en su etapa de postcosecha. El uso de biocontroladores ha sido ampliamente estudiado en enfermedades fitopatógenas, el género *Bacillus* ha demostrado ser eficaz contra *Colletotrichum* spp., responsable de antracnosis en diversos cultivos. Se ha evidenciado que *Bacillus licheniformis* puede proteger el ñame (*Dioscorea alata*) contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Bautista-Ortega et al., 2022). Asimismo, *Bacillus velezensis* siendo biocontrolador efectivo de *Colletotrichum gloeosporioides* (Bautista-Ortega et al., 2022). Otro estudio evaluó cepas nativas de *Bacillus* spp. como agente de control de *Colletotrichum fruticola*, con una tasa promedio de inhibición del 60,68 % (Silva & Jiménez, 2025). El género

*Bacillus* es una alternativa biológica que reduce la dependencia a los fungicidas químicos y promueve un manejo sostenible en los cultivos (Haddoudi et al., 2021).

Si bien el aspecto económico de la agricultura es fundamental, no se debe olvidar la importancia de un enfoque sostenible, que proteja el medio ambiente como fuente de biodiversidad, alimento y vida. De la misma manera la seguridad alimentaria, busca garantizar el acceso a alimentos nutritivos, sostenibles y suficientes, como base para una población saludable. Estos aspectos están directamente conectados, ya que para producir alimentos sanos y procesarlos adecuadamente, es indispensable contar con sistemas agrícolas sanos y libres de químicos (Guamán-Rivera & Flores-Mancheno, 2023). Por esta razón el uso de insumos orgánicos que protejan e interactúen de manera armónica con los ecosistemas, así como la reducción de desperdicios; no solo garantiza alimentos seguros sino una disponibilidad de estos y la salud del suelo a largo plazo, amortiguando el impacto ambiental (Guamán-Rivera & Flores-Mancheno, 2023).

La antracnosis es una de las enfermedades más graves que afectan a cultivos de *S. betaceum* en Ecuador causada por *Colletotrichum* spp (Guevara-Suarez et al., 2022) El hongo causa daños en ramas y hojas en todos los estados fenológicos de la planta principalmente los frutos, los síntomas que produce el patógeno inician seis días después de la inoculación generando lesiones de color negro que pueden cubrir total o parcialmente el fruto, en ciertos casos se produce una maduración prematura y posterior caída del fruto, (Guevara-Suarez et al., 2022), bajo condiciones de alta humedad, temperaturas entre 13 y 15 °C y fuertes lluvias la incidencia de la enfermedad aumenta, además dichas condiciones generan la proliferación de esporas del hongo. El hongo puede mantenerse latente en hojas y ramas viejas propagando las esporas al resto de los órganos cuando encuentran las condiciones necesarias. (V. Cadena & A. López, 2021). Esto causa pérdidas superiores al 50% por *Colletotrichum gloesporioides* (Armas-Vega et al., 2023).

Ante el impacto significativo de la antracnosis en los cultivos de *S. betaceum*, resulta fundamental implementar prácticas de manejo agrícola que permitan un equilibrio entre la productividad y la conservación del medio ambiente. Un manejo adecuado de los cultivos respalda tanto el desarrollo económico de las zonas rurales como la seguridad alimentaria del país, al tiempo que contribuye a reducir las pérdidas ocasionadas por patógenos como *Colletotrichum* spp. (Armas-Vega et al., 2023) . La búsqueda de soluciones debe ser inmediata, como por ejemplo el uso de bioinsumos eficientes, que resguarden la seguridad alimentaria y ambiental. (Santos et al., 2023). Los bioinsumos se presentan como herramientas para la agricultura sostenible que busca mantener la productividad agrícola sin comprometer los recursos naturales y el medio ambiente. La agricultura sostenible se fundamenta en pilares como el manejo eficiente de recursos, la protección del medio ambiente, la conservación de la biodiversidad y el bienestar económico de las comunidades rurales. En este contexto, los bioinsumos contribuyen a mejorar la salud del suelo, incrementar la calidad de vida de los agricultores al reducir la exposición a productos químicos dañinos y, al mismo tiempo, preservar los ecosistemas agrícolas (Santos et al., 2023)

El género *Bacillus* posee una amplia versatilidad como bioinsumo. Puede actuar como antifúngico, antibacteriano y antibiótico con lo cual puede inhibir el crecimiento de patógenos en el suelo y plantas, mermando la dependencia de agroquímicos (Silva & Jiménez, 2025). Asimismo, las especies de *Bacillus* promueven el crecimiento vegetal, lo que incrementa la biodisponibilidad de nutrientes en el suelo fortaleciendo el estrés abiótico (Bautista-Ortega et al., 2022). *Bacillus* puede ser utilizado como biocontrol de *Colletotrichum* en frutos de *S. betaceum* debido a su capacidad de inhibición el crecimiento del hongo, muchas cepas de *Bacillus* generan resistencia sistemática en las plantas lo que estimula su mecanismo de defensa contra futuras amenazas (Hirozawa et al., 2023).

En este sentido, esta investigación busca comprender el papel que pueden desempeñar distintas cepas de *Bacillus* spp en el control de antracnosis en postcosecha que afectan a los frutos de *Solanum betaceum*. A través de pruebas in vivo, se pretende valorar su eficacia como posibles agentes biocontroladores bajo condiciones controladas. De manera particular, el estudio se orienta a conocer la capacidad de las cepas de *Bacillus* spp para inhibir el desarrollo de *Colletotrichum* spp, uno de los principales patógenos responsables de pérdidas en el tomate de árbol. Asimismo, se evaluará cómo la aplicación de estos microorganismos influye en la calidad fisicoquímica del fruto durante el almacenamiento y, finalmente, se analizará la persistencia de las cepas en los frutos al someterlos a distintas condiciones postcosecha.

En esta investigación se proponen hipótesis de tipo causal, ya que se busca comprender si la aplicación de *Bacillus* spp. realmente influye en el control de antracnosis en postcosecha y en la conservación de la calidad de los frutos de *Solanum betaceum*. Se parte de la idea de que las cepas de *Bacillus* spp podrían disminuir los daños provocados por *Colletotrichum* spp. y ayudar a mantener las características fisicoquímicas del fruto durante el almacenamiento. De comprobarse, este enfoque ofrecería una alternativa natural, sostenible para el manejo postcosecha.

## **2 Fundamentación teórica**

### **2.1 Tomate de Árbol (*Solanum betaceum*).**

El tomate de Árbol (*Solanum betaceum*), es una de las frutas más representativas de la sierra ecuatoriana, no solo por sus características nutricionales y potencial agroindustrial sino por su relevancia en la agricultura sostenible (Moreno-Miranda et al., 2020). Originario de los Andes tropicales, esta especie perteneciente a la familia *Solanaceae*, se distingue por su sabor dulce y ácido, así como su pulpa de color naranja intenso a rojo, rica en propiedades bioactivas como antioxidantes, vitaminas e importantes compuestos de interés tanto farmacológico como alimenticio. La historia de este fruto ha acompañado a pueblos originarios, se adaptó a distintos ecosistemas y contextos culturales, lo que ha favorecido su expansión a mercados internacionales (Marcial et al., 2023).

#### **2.1.1 Origen y Distribución Geográfica.**

El origen del Tomate de árbol (*Solanum betaceum*) está en el sur de América, en zonas andinas de Ecuador y Perú donde fueron los centros de domesticación hace más de dos mil años en pueblos prehispánicos (Patricio & Gualán, 2024). Su expansión se ubicó en Colombia y Bolivia adaptándose a climas y ecosistemas diferentes que hacen de su variabilidad genética más rica. (Yadir Gómez Gómez & Quintero Echeverri, 2025).

Dentro de la diversidad agrícola local, en Ecuador, se cultiva principalmente en las provincias de Tungurahua, Imbabura, Cotopaxi y Loja, donde las condiciones ambientales ofrecen características óptimas como humedad, temperatura y altitud para su desarrollo (Calapiña, 2022). Su valor nutritivo, en los últimos años, ha promovido su llegada a diversos países de Europa, Asia y dentro del continente americano. Eso no solo demuestra la

versatilidad de este fruto a climas extraños sino su interés mundial en su producción agroindustrial renombrado así su alto valor (Marcial et al., 2023).

### **2.1.2 Importancia Económica y Agrícola.**

Su cultivo permite generar ingresos tanto a grupos de exportación internacional como productores primarios, su creciente demanda permite generar ingresos durante todo el año (Lema et al., 2023). Su plantación brinda productos bajo ciertas condiciones precisas, lo torna en un cultivo económicamente, rentable. Su versatilidad gastronómica le suma un valor agregado único dando apertura a un mercado en la industria alimentaria.

El Tomate de árbol (*Solanum betaceum*), con gran capacidad de adaptación, su rendimiento óptimo se encuentra entre a latitudes de 1,000 a 2,800 msnm, temperaturas entre 13 y 20 °C, resistencia a plagas, rápida regeneración y fácil manejo, lo transforman en una alternativa sostenible en la agroindustria. Sin embargo, no lo abstienen de ser blanco de plagas y amenazas fitopatológicas (Cartuche, 2024).

La expectativa del mercado del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) ha ido en aumento con el paso de los años, incrementando la atención del mercado internacional por frutas exóticas y nutritivas. (Armas-Vega et al., 2023). Acrecentó la inversión extranjera de países como Canadá, que ha importado pulpa y productos derivados, fomentando nuevas técnicas agrícolas y técnicas de postcosecha que prolonguen la vida útil de este fruto. Esto incentiva a productores primarios y al sector rural la conservación de estas especies nativas y motiva, al tomate de árbol, como un cultivo sostenible a largo plazo (Guamán-Rivera & Flores-Manchano, 2023).

### 2.1.3 Características Taxonómicas y Botánicas.

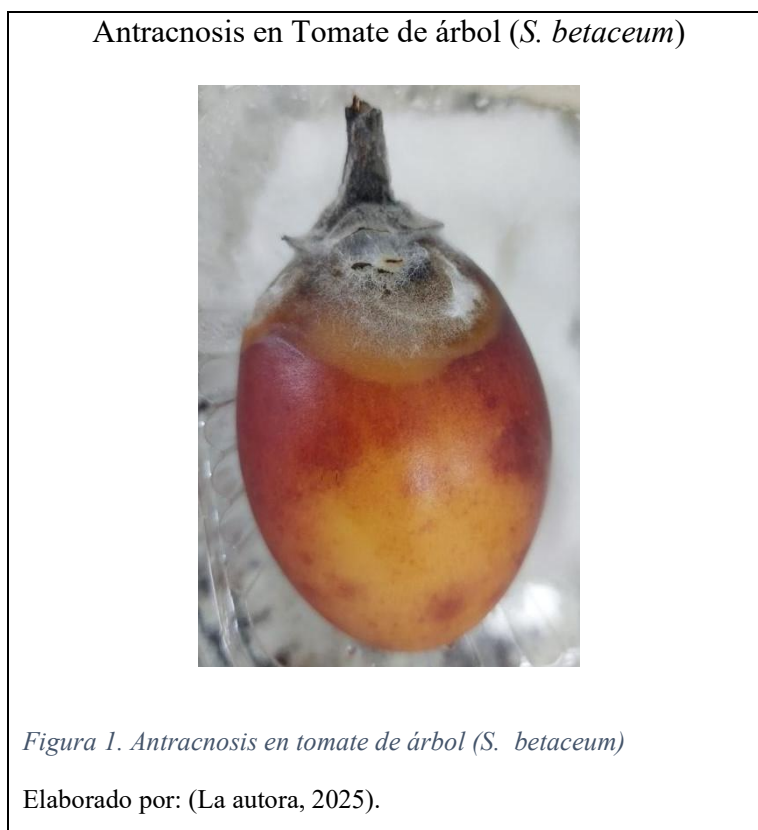
En su taxonomía, se describe como un arbusto que llega hasta los 5 metros de altura, de hojas grandes aterciopeladas. Sus flores son hermafroditas, de color blanco a violeta suave, dispuestas en inflorescencias terminales. Las bayas de esta especie tienen forma ovoide, cuyo tamaño oscila según su variedad y estado de madurez, desde los 6 y 12 cm de longitud, sus colores van desde el rojo-morado hasta un naranja brillante. Su estructura radicular se desarrolla profundamente, lo que facilita el acceso a nutrientes en el suelo (Cartuche, 2024).

Perteneciente a la familia *Solanaceae*, del género *Solanum*. Su polinización es entomófila, realizadas principalmente por abejas, aunque también puede ocurrir la autopolinización. Una cualidad interesante es su plasticidad ecológica, que le permite adaptarse a diversos ecosistemas con altitudes diferentes, tipos de suelo y climas. Esto sucede gracias a sus hojas, las cuales la protegen de la radiación solar y reducen la pérdida de agua por transpiración (Ayala-Tafoya et al., 2015).

### 2.1.4 Principales Enfermedades.

El cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) es vulnerable a varias enfermedades que afectan al rendimiento y calidad del fruto; entre las más comunes se encuentra la antracnosis que provoca manchas negras o cafés, rodeadas por un halo amarillo, lo que finalmente deriva en la podredumbre del fruto; esta enfermedad es causada por *Colletotrichum* spp (Cadena & López, 2021). Por su parte, la fusariosis, ocasionada por *Fusarium oxysporum*, genera marchitamiento foliar (García-Jaramillo et al., 2022). Así mismo, las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Erwinia* producen exudados y

ablandamiento del fruto (Villaseñor-Tulais et al., 2023). Estas patologías representan desafíos clave para el desarrollo de estrategias de biocontrol.



### 2.1.5 Antracnosis y su Impacto.

Especies de *Colletotrichum*, como *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*, son los agentes causales de la antracnosis en diversas especies frutales, no solo en tomate de árbol (*S. betaceum*). Esta enfermedad se considera una de las más devastadoras, ya que afecta tanto a frutos maduros como aquellos aun verdes. Su método de infección consistente en la invasión de los tejidos del fruto, lo que provoca manchas y hundimientos de color negro a marrón que pueden llegar a cubrir todo el fruto hasta causar su pudrición (Cadena & López, 2021). Esta

afección impacta directamente a la calidad y el rendimiento del fruto, generando pérdidas económicas significativas.

La presencia del patógeno también facilita la colonización por otros microorganismos secundarios, lo que acelera el proceso de necrosis celular. El impacto económico y agrícola se refleja en la disminución la calidad del fruto en su peso, sabor y textura, lo que reduce su valor comercial y limita su exportación (Gañán et al., 2015). Esta fitopatología puede expandirse rápidamente bajo condiciones ideales para el desarrollo de *Colletotrichum* spp, como altos niveles de humedad y temperaturas moderadas o templadas. Por ello, se requiere la implementación de estrategias de biocontrol y manejo integrado de métodos preventivos para restar pérdidas económicas y agrícolas (Jiménez, 2022).

## **2.2 *Colletotrichum* spp. Hongo Fitopatógeno**

El género *Colletotrichum* agrupa especies de fitopatógenos, entre ellas se encuentran: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum truncatum* que afectan una amplia gama de cultivos a nivel mundial, y que originan enfermedades como la antracnosis, responsable de la podredumbre de los frutos (García-Mateos et al., 2021). Se estima que más del 50% de las pérdidas en postcosecha de frutos tropicales es debido a infecciones causadas por el género *Colletotrichum*, lo que representa un impacto económico considerable a los productores primarios (Cadena & López, 2021). Este género posee una notable capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales para su proliferación, lo cual constituye un desafío importante para el desarrollo de una agricultura sostenible. (Souza et al., 2023).

### 2.2.1 Características Principales (Macroscópicas y Microscópicas)

Entre las principales características macroscópicas del género *Colletotrichum* se destaca la coloración de sus colonias, que varía desde tonos blanco-grisáceos hasta anaranjados o rosados hasta tornarse café a medida que maduran. Estas colonias presentan un crecimiento aterciopelado con textura algodonosa, donde se forman estructuras denominadas acérvulos, en las cuales se agrupan los conidios. La formación de estas estructuras sucede al exponerse a la luz como método de protección contra la radiación ultravioleta (Rubio-Sosa et al., 2025).

El color característico en las colonias se debe a la producción de pigmentos secundarios como melaninas, carotenoides y antraquinonas, los cuales actúan contra el estrés lumínico y oxidativo (Herrera-González et al., 2024). Este mecanismo funciona como un filtro protector que resguarda las estructuras reproductivas (Barroso-Ake et al., 2021).

La tonalidad puede variar entre matices rosados y anaranjados dependiendo de la especie, el tipo de medio de cultivo, las condiciones ambientales y el nivel de exposición a la luz natural o artificial, factores que activan los genes de expresión relacionados a la síntesis de estos metabolitos secundarios. Esta característica resulta relevante, ya que contribuye a la adaptación y supervivencia del hongo en ambientes con alta exposición lumínica (Barroso-Ake et al., 2021).

*Colletotrichum* spp en medio PDA expuesto a 12 horas luz

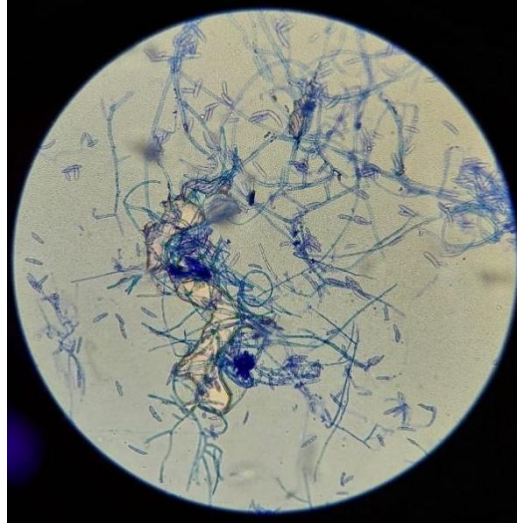


Figura 2. *Colletotrichum* spp en medio PDA expuesto a 12 horas luz

Elaborado por: (La autora, 2025)

A nivel microscópico, las especies del género *Colletotrichum* presentan conidios unicelulares e hialinos, de forma cilíndrica y bordes lisos. Además, forman apresorios ovoides de color café oscuro, estructuras que les permiten adherirse y penetrar los tejidos del huésped. En algunas especies existen setas que sobresalen de sus acérvulos. (Herrera-González et al., 2024).

### Esporas de *Colletotrichum* spp en microscopio



*Figura 3. Esporas de Colletotrichum spp en microscopio*

Elaborado por: (La autora, 2025)

Nota: Identificación microscópica en tinción en azul de lactofenol

## 2.2.2 Condiciones de Desarrollo

El desarrollo del género *Colletotrichum* está directamente influenciado por diversos factores ambientales, entre los cuales se incluyen la luz, disponibilidad de nutrientes, temperatura y humedad relativa. Para su crecimiento necesita temperaturas en el rango de 27 a 31 °C, condiciones que favorecen a la formación de conidios y, en consecuencia, la producción de apresorios y acérvulos (Valdés et al., 2017).

La humedad relativa resulta especialmente importante para la infección ya que facilita la adhesión de las esporas a los tejidos del huésped. Además, el medio de cultivo debe ser rico en compuestos orgánicos, como azúcares, que inducen a la esporulación. (Rayón-Díaz et al., 2021).

### **2.2.3 Ciclo de Vida**

El ciclo de vida del género *Colletotrichum* inicia al primer contacto con el huésped, cuando los conidios son dispersados mediante salpicaduras de lluvia, gotas de agua o insectos. Una vez que se producen el contacto, los conidios germinan y estos formarán apresorios, estas estructuras permiten la penetración mecánica y enzimática en el tejido vegetal. (Valdés et al., 2017).

En esta fase inicial, hongo presenta un comportamiento quiescente, prácticamente asintomático, sin causar síntomas visibles. Posteriormente, el patógeno entra a una fase agresiva, durante la cual secreta toxinas y enzimas capaces de degradar la pared celular, evolucionando hacia una fase necrótica, característico de la antracnosis. Finalmente, se desarrollan acérvulos sobre los tejidos dañados, liberando conidios que son nuevamente dispersados por insectos, lluvias o viento, reiniciando el ciclo de infección. Bajo condiciones ambientales, este ciclo puede repetirse rápidamente, dejando a los cultivos especialmente vulnerables. (Rubio-Sosa et al., 2025).

### **2.2.4 Mecanismos de patogenicidad**

El género *Colletotrichum* spp presenta una interacción sofisticada entre su huésped, sustentada en mecanismos moleculares de reconocimiento que regulan la producción de enzimas hidrolíticas (Rayón-Díaz et al., 2021). Estas enzimas incluyen pectinas, cutinasas y celulasas que hidrolizan las paredes celulares del huésped. simultáneamente, los metabolitos secundarios del hongo suprimen la respuesta inmunológica de la planta permitiendo la entrada a la fase biotrófica (Zapata-Narváez et al., 2021). Lo más notable, *Colletotrichum* spp. activa genes asociados a la necrosis, es decir, induce a la fase necrótropa, produce

activamente toxinas y enzimas líticas que destruyen tejidos a la par de liberar nutrientes; esta habilidad del hongo es una característica adaptativa y altamente infecciosa. (Jiménez-Maldonado et al., 2022).

## **2.2.5 Principales especies afectadas por *Colletotrichum* spp en Ecuador**

Numerosos estudios y ensayos han demostrado que *Colletotrichum* spp afecta a especies como el maracuyá (*Passiflora edulis*)(Ángel García et al., 2018), Tomate de árbol (*Solanum betaceum*) (Marcial et al., 2023), el aguacate (*Persea americana*) (Herrera-González et al., 2024), el café (*Coffea arabica*)(Rubio-Sosa et al., 2025), el mango (*Mangifera indica*) (Jiménez-Maldonado et al., 2022), entre otros más. Esto deja en evidencia su alta patogenicidad y versatilidad para adaptarse a los cultivos en el Ecuador.

## **2.2.6 Estrategias de Control**

### **2.2.6.1 Estrategias de Control Común**

La estrategia más común es el uso de pesticidas o fungicidas químicos del grupo de los triazoles, estrobilurinas y benzimidazoles, pueden ser aplicados tanto de forma preventiva como curativa para evitar o cesar el daño de la antracnosis (Campo-Arana & Royet-Barroso, 2020). Sin embargo, estos mismos cultivos generan resistencia a estos pesticidas comprometiendo la salud del cultivo y el suelo a largo plazo. (Guamán-Rivera & Flores-Mancheno, 2023).

### **2.2.6.2 Estrategias de Control Biológico**

Considerando las limitaciones del control común o control Químico, el control biológico se ha convertido en una alternativa sostenible y segura frente a *Colletotrichum* spp,

se basa en el uso de microorganismos antagonistas capaces de detener o inhibir el desarrollo del fitopatógeno, Esto ocurre mediante la producción de compuestos antimicrobianos, la competencia por nutrientes y la estimulación del sistema de defensa de la planta (Santos et al., 2023). En este escenario entran especies del género *Bacillus*, destacadas por su capacidad de esporulación y actividad antagonista como recurso esencial para el manejo de cultivos afectados por la antracnosis (Bautista-Ortega et al., 2022).

## **2.3 *Bacillus* spp.**

### **2.3.1 Características el Género**

Entre los microorganismos con potencial biotecnológico se encuentra el género *Bacillus* spp. Ampliamente distribuido y con historial de antagonista ante fitopatógenos. Estas bacterias son gram positivas y facultativamente anaerobias, tienen forma de bacilo con flagelos peritricos. (Saavedra et al., 2024). Su resistencia y adaptabilidad los hace capaces de formar esporas endógenas que les capacita a sobrevivir bajo condiciones de extrema temperatura o nutrientes limitados, por esto, tienen un metabolismo versátil para degradar compuestos orgánicos hasta convertirnos en compuestos microbianos para control biológico. (González-León et al., 2022).

### **2.3.2 Características Macroscópicas y Microscópicas**

La observación del género *Bacillus* spp en medios sólidos y líquidos revelan rasgos distintivos para evaluar su viabilidad, morfología y potencial funcional. En medio solido su morfología se caracteriza por ser lisas a ligeramente rugosas y circulares, con bordes bien definidos de color blanco o crema amarillento, esto dependerá de la cepa o especie, tienen un brillo característico en su superficie (Saavedra et al., 2024). En medio líquido, crea una

biopelícula en la pared del recipiente que contiene el medio, turbidez difusa, sedimento al fondo del frasco debido a la esporulación del género; en medios líquidos tiende a crecer más rápido que en el sólido (González-León et al., 2022).



Al analizar bajo el microscopio son grampositivos, ligeramente curvados, forman cadenas cortas o por separado presentan flagelos peritricos con pared celular gruesa, estas características les proporciona resistencia frente cambios ambientales drásticos. Su diversidad morfológica en forma y tamaño varía según la especie y el medio donde se desarrollen, esto es gracias su metabolismo facultativo. (Silva & Jiménez, 2025).

### Endosporas de *Bacillus megaterium* en tinción gram

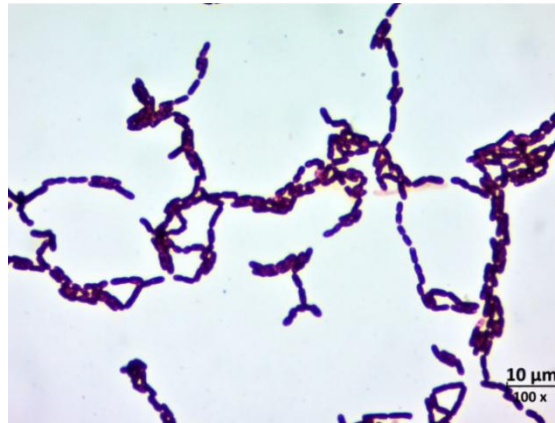


Figura 5. Endosporas de *Bacillus megaterium* en tinción gram

Fuente: (Santos, 2018)

### 2.3.3 Condiciones de Desarrollo

Para su desarrollo adecuado en condiciones mesófilas necesita temperaturas entre los 28 a 37 °C y el pH neutro o cercano a él. En medios ricos en nutrientes como TSB o TSA, en condiciones aerobias crece beneficia su desarrollo. Tiene la capacidad de generar endosporas que resiste a ambientes extremos y le asegura su sobrevivencia. (Adame García et al., 2021).

### 2.3.4 Ciclo de Vida

Comprende dos etapas cruciales: la primera es la fase vegetativa activa, donde bajo condiciones favorables sus células se desarrollan con facilidad valiéndose de fisión binaria, sobre todo al existir suficientes nutrientes en el medio, esto les permite habitar y expandir población, puede liberar compuestos antifúngicos o antimicrobianos, hasta que escasean nutrientes y comienza la segunda etapa. (González-León et al., 2022). En la segunda etapa,

la fase de esporulación o latencia, al existir cambios drásticos en las condiciones de desarrollo, *Bacillus* spp. induce a que genes activen mecanismos fisiológicos y produzcan endosporas, es una estrategia que reorganiza de célula vegetal o espora, las capas protectoras de citoplasma se sintetizan y lo deshidratan para proteger el material genético, al volver a la normalidad, es decir, al mejorar las condiciones del medio, las esporas germinan continuando con el ciclo de vida de *Bacillus* spp. (Adame García et al., 2021).

### **2.3.5 Diversidad de Genética**

Confiere una diversidad genética significativa, lo que brinda facultad de adaptación a distintos ambientes, esto se debe a los plásmidos ya que hay transferencias horizontales de genes y mutaciones espontáneas que le otorgan nuevos rasgos de resistencia. Como resultado de este rasgo, varias cepas y especies tienen habilidades desde la inhibición de patógenos, promoción vegetal hasta aplicaciones biotecnológicas que aun no se descubre por completo (Calderón-Toledo et al., 2023).

### **2.3.6 Mecanismo de Biocontrol**

Como mecanismo de biocontrol produce Antibióticos, enzimas degenerativas y lipopéptidos que cesan el desarrollo de fitopatógenos como el *Colletotrichum* spp. Compite por nutrientes lo que limita la proliferación del hongo fitopatógeno reduciendo la severidad de antracnosis (González-León et al., 2022).

*Bacillus* spp incentiva la defensa de la plata y/o fruto mediante la estimulación de inducción a la resistencia sistémica que promueve fitoalexinas y enzimas defensivas que dificultan la penetración de patógenos y refuerzan la pared celular (Martínez-Netro et al., 2025). Esto lo convierte en una herramienta funcional y respetuoso con em medio ambiente.

### **2.3.7 Interacción Antagónica con *Colletotrichum* spp.**

Se evidencia la interacción antagónica en la competencia por nutrientes, como en la producción de enzimas degradativas y compuestos antifúngicos que dañan la pared celular del hongo fitopatógeno haciendo que se limite el espacio de crecimiento de *Colletotrichum* spp. reduciendo la incidencia y severidad de la antracnosis. Además, beneficia creando un entorno hostil para el hongo fortaleciendo las barreras naturales de la planta y/o fruto (Silva & Jiménez, 2025).

### **2.3.8 Ventaja del Control Biológico: Impacto y Ambiental.**

El género *Bacillus* spp. Dispone de ventajas a nivel ambiental, económico y social. En el Ámbito ambiental es esencial destacar la reducción de contaminación y daño al suelo por parte de los pesticidas químicos, estos pesticidas contaminan el agua y destruyen la microbiota del suelo desequilibrando ecosistemas enteros (Santos et al., 2023). *Bacillus* spp. Brinda una solución a esta problemática, ya que reduce la conminación, no solo protegiendo a la plata, sino restaurando el equilibrio natural del suelo y por consiguiente del ecosistema (Guamán-Rivera & Flores-Manchero, 2023). A nivel social, la salud ocupacional de los productores primarios mejora drásticamente al ya no exponerse directamente con pesticidas químicos. Además, en el aspecto económico, contribuye a un a producción agrícola más sostenible y responsable con la vida silvestre, evitando perdidas a largo plazo, con buenas prácticas agrícolas (Armas-Vega et al., 2023).

### 3 Materiales y métodos

El diseño experimental fue completamente al azar (DCA) que consistió en la evaluación de cinco cepas de *Bacillus* spp. como agentes de control biológico frente al patógeno *Colletotrichum* spp. La aplicación de los tratamientos se dividió en dos etapas temporales críticas para observar la dinámica de protección: una primera inoculación realizada al día 5 y una segunda al día 8 postratamiento inicial. Como control de referencia química, se incluyó la aplicación del fungicida comercial Ardione, permitiendo contrastar la eficacia de las cepas biológicas frente a un estándar comercial. Con el fin de garantizar la robustez estadística y la reproducibilidad de los datos, cada combinación de tratamiento y tiempo de inoculación contó con tres repeticiones independientes para su posterior análisis.

Tabla 1. Tratamientos, cepas de *Bacillus* spp y tipos de tratamientos aplicados para los días 5 y 8

Tratamiento	Cepa	Tipo
T1	testigo	Blanco
T2	<i>Colletotrichum</i>	Solo cepa
T3	<i>B.M</i>	Preventivo
T4	<i>B.M.</i>	Curativo
T5	<i>B.M</i>	Solo cepa
T6	H32	Preventivo
T7	H32	Curativo
T8	H32	Solo cepa
T9	H35	Preventivo
T10	H35	Curativo
T11	H35	Solo cepa
T12	O41	Preventivo
T13	O41	Curativo
T14	O41	Solo cepa
T15	S60	Preventivo
T16	S60	Curativo
T17	S60	Solo cepa
T18	Químico	Preventivo
T19	Químico	Curativo
T2'0	Químico	Solo cepa

Elaborado por: (La autora, 2025)

### 3.1 Preparación y ajuste de suspensión de esporas de *Colletotrichum* spp.

El cultivo de *Colletotrichum* spp. Fue obtenido de cajas Petri previamente purificadas y conservadas en el laboratorio de Ciencias de la Vida en la Universidad Politécnica Salesiana. Estas cajas fueron manipuladas dentro de una cabina de flujo laminar desinfectada previamente con Savlón y alcohol al 70%, continuando con las condiciones de esterilidad requeridas para el inóculo en frutos (Valdés et al., 2017).

Para la obtención de la suspensión, se añadió agua destilada directamente sobre la superficie del micelio utilizando una jeringa de 10 mL, y se precedió a frotar suavemente el cultivo durante aproximadamente 3 minutos con una asa de Drigalsky, con el fin de desprender las esporas del micelio fúngico. La suspensión formada fue recolectada nuevamente con la jeringa y se le añadió Tween 20 para favorecer la dispersión de las esporas (Barroso-Ake et al., 2021).

La suspensión fue recolectada y transferida a un tubo de vidrio estéril para su posterior ajuste de concentración. La suspensión madre fue agitada en un vórtex para garantizar su homogeneidad. A continuación, se tomó una alícuota de 10  $\mu\text{L}$  y se colocó cuidadosamente sobre la cámara Neubauer, evitando la formación de burbujas antes de cubrirla con el cubreobjetos. La Observación fue realizada en un microscopio óptico en el objetivo de 40x, registrándose el número de esporas presentes en cinco cuadros grandes ( $1\text{mm}^3$ ) de cuadrícula. Con estos datos se calculó la concentración final mediante la fórmula convencional para cámaras de recuento, considerando el promedio de esporas, el factor de dilución aplicado y el factor de correlación correspondiente (Barroso-Ake et al., 2021).

Cuando la concentración inicial superó el valor requerido, la suspensión fue diluida con agua destilada estéril o solución salina, empleando la ecuación  $C1V1 = C2V2$  para

establecer el volumen exacto de dilución necesario. Una vez alcanzada la concentración deseada, la suspensión fue transferida a un tubo Falcon estéril (Barroso-Ake et al., 2021).

$$\frac{\text{Número de esporas}}{\text{mL}} = \frac{\text{Promedio de esporas por cuadrado} * \text{Factor de Dilución} * 10^4}{1}$$

Formula 1. Cálculo de concentración

### 3.2 Inoculación de *Colletotrichum* spp

La inoculación de *Colletotrichum* spp se realizó utilizando frutos sanos de tomate de árbol previamente lavados con agua y con jabón, y desinfectados con alcohol al 70%. Mientras la cámara de flujo laminar se encontraba en proceso de esterilización, se prepararon los recipientes de incubación colocando una fina capa de agua destilada o algodón humedecido en el fondo para mantener condiciones de humedad sin llegar a empapar los frutos. Una vez dentro de la cabina, los tomates fueron flameados ligeramente por unos 5 segundos para completar la desinfección superficial (Rayón-Díaz et al., 2021).

En la zona cercana al pedicelo se generó una herida superficial empleando un bisturí o aguja estéril. El fruto fue nuevamente expuesto al alcohol al 70% durante 30 segundos para reducir la probabilidad de contaminación cruzada. La suspensión de esporas se homogenizó en un vórtex durante 30 segundos y, posteriormente, se aplicaron 20 µL directamente sobre la herida mediante micropipeta estéril. Alternativamente, cuando se utilizó el cultivo en caja Petri, se tomó una pequeña porción del micelio con un asa estéril y se depositó suavemente sobre la lesión (Jiménez-Maldonado et al., 2022). Esto se usó cuando la cantidad de esporas del fitopatógeno no son suficientes dentro de la suspensión.

Recipiente de Almacenamiento para Tomate de Arbol.



*Figura 6 Recipiente de Almacenamiento*

Fuente: (La Autora, 2025)

Finalmente, los frutos inoculados fueron colocados en los recipientes previamente preparados, los cuales fueron sellados y etiquetados para su seguimiento durante el periodo de incubación.

### 3.3 Preparación y ajuste de cultivo de *Bacillus* spp.

Del banco de bacterias de la Universidad Politécnica Salesiana, se seleccionaron 5 cepas de *Bacillus* spp (Tabla 1) a partir de 73 disponible debido a que, en investigaciones previas se evidenció su actividad antagonista *in vitro*. Se realizó un cultivo en Caldo de soya tripticaseína (TSB) para su reactivación e incubadas durante 48 horas a 36 °C. Todo el procedimiento fue llevado a cabo en una cabina de flujo laminar previamente desinfectada, utilizando material estéril para evitar contaminación. La suspensión inicial fue utilizada para preparar las diluciones seriadas necesaria, transfiriendo 1 mL del cultivo a 9 mL de solución salina estéril para obtener la dilución 10<sup>-1</sup> y repitiendo el proceso sucesivamente hasta alcanzar la concentración requerida (Larrea-Izurietta et al., 2015).

Cada dilución fue agitada suavemente y posteriormente sembrada en placas Petri con Agar Nutritivo (NA) mediante la aplicación de 100 µL por placa, distribuidos uniformemente con un espaciador de vidrio estéril. Las placas fueron incubadas en posición invertida entre los 28 a 37 °C durante 48 horas, permitiendo así el desarrollo de colonias individuales adecuadas para el recuento viable. Este recuento se realizó empleando la fórmula estándar para unidades formadoras de colonia por milímetro (UFC), considerando el número de colonias, el factor de dilución y volumen sembrado (Saavedra et al., 2024).

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{Colonias\ contadas * Factor\ de\ Dilución}{Volumen\ sembrado\ (mL)}$$

*Formula 2. Conteo Unidades Formadoras de Colonias*

Una vez obtenida la concentración final, el cultivo fue ajustado cuando fue necesario utilizando solución salina estéril, aplicando la relación  $C_1V_1 = C_2V_2$  para alcanzar la concentración requerida en los ensayos experimentales.

### **3.4 Aplicación de *Bacillus* spp. en frutos**

Para la aplicación de *Bacillus* spp. En frutos se realizó en cabina de flujo laminar, desinfectada, colocando cada fruto o unidad experimental entre dos mecheros para mantener una aplicación estéril. Las cepas seleccionadas de *Bacillus* spp. se prepararon en una suspensión fresca y se aplicó directamente sobre la herida, cáliz o superficie del fruto, utilizando un chisguete manual esterilizado. Cada fruto recibió una dosis de 5 ml, asegurando una distribución homogénea y localizada según el tratamiento establecido (Saavedra et al., 2024).

### **3.5 Almacenamiento de los frutos**

Los frutos inoculados se almacenaron en cámaras húmedas individuales, utilizando una reja plástica o una capa fina de algodón como soporte interno. En cada cámara se añadieron 100 ml de agua destilada estéril en el fondo para asegurar una humedad elevada y estable durante todo el periodo de evaluación. Los frutos se colocaron sin contacto con las paredes de la caja, y las cámaras se mantuvieron selladas a la temperatura y tiempo definidos en el diseño experimental para garantizar condiciones controladas de desarrollo. Para las pruebas se estableció dos tiempos, en 5 días y 8 días, con el fin de entender el comportamiento de ambos microorganismos inoculados en el tomate. Dado que *Colletotrichum* spp. requiere varios días para esporular in vitro, las inoculaciones se realizaron a los días 5 y 8 posteriores al establecimiento del hongo, asegurando la presencia de esporas viables para una infección efectiva. A demás las temperaturas para ambos microorganismos se mantuvieron al ambiente.

### **3.6 Análisis Microbiológico**

#### **3.6.1 Análisis de sobrevivencia de *Bacillus* spp. en fruto**

La sobrevivencia de *Bacillus* spp. En los frutos se evaluó colocando cada fruto tratado en una bolsa estéril con 200 ml de caldo TSB, para cubrir su superficie, esto va a depender del tamaño del fruto; seguido de una agitación manual o en stomacher para desprender las bacterias. El diluyente obtenido se recuperó para realizar varias diluciones seriadas, de las cuales se sembraron alícuotas en placas con Agar Nutritivo para el recuento viable. Las placas se incubaron a 36 °C durante 48 horas y posteriormente, se verificó la presencia de *Bacillus* spp mediante observación del crecimiento y turbidez. (Saavedra et al., 2024).

### **3.7 Análisis Físicoquímico**

#### **3.7.1 Análisis de textura del fruto (firmeza)**

Se analizó la textura de los frutos utilizando un analizador de texturas EZ Test (Shimadzu) equipado con una sonda de penetración cilíndrica, configurado y controlado mediante el software TRAPEZIUX. Antes de cada medición se seleccionó el método de prueba correspondiente y se ajustaron los parámetros recomendados: Velocidad de 1 mm/s, modo de control por distancia y una profundidad de penetración entre 5 y 10 mm, además de un umbral de fuerza inicial de 0,1-0,2 N para asegurar una detección precisa del contacto con el fruto (Matos et al., 2022).

Los frutos se colocaron de manera estable en la plataforma del equipo, alineando la zona ecuatorial directamente bajo la sonda. Una vez fijada la muestra se procedió a ajustar la prueba desde el software para registrar la fuerza necesaria para la penetración, información

que permite evaluar la firmeza del fruto. El equipo registro automáticamente la curva fuerza-distancia para su posterior interpretación (Matos et al., 2022).

Al finalizar cada medición se retiró el fruto cuidadosamente y se limpió con un paño suave humedecido con agua destilada o etanol al 70% para evitar contaminación entre muestras. Los datos generados se guardaron desde el software en los formatos requeridos, asegurando un registro ordenado y reproducible del comportamiento mecánico de los frutos analizados (Matos et al., 2022).

### **3.7.2 Obtención del jugo**

El jugo se obtuvo partiendo de muestras previamente pesadas para asegurar la estandarización de los análisis posteriores. Cada fruto fue procesado utilizando una licuadora limpia, añadiendo agua destilada en una proporción suficiente para facilitar la trituración sin alterar las características químicas de la muestra. Una vez licuado el fruto, la mezcla se filtró o decantó según fuera necesario para obtener un jugo homogéneo libre de residuos sólidos que puedan interferir con las mediciones. Este jugo se homogenizó cuidadosamente para garantizar que todas las subsecuentes determinaciones analíticas se realizaran a partir de una muestra uniforme (Aguilera-Aguirre et al., 2025).

El jugo final se empleó directamente para las evaluaciones de °Brix, pH y Acidez titulable, permitiendo que todas las mediciones provinieran del mismo extracto, lo cual asegura coherencia, comparabilidad y precisión en los resultados experimentales. (Matos et al., 2022).

### **3.7.3 Contenido de sólidos solubles totales (°Brix)**

Se realizó utilizando un Refractómetro digital (Modelo MA884, Milwaukee) previamente calibrado y con el prisma completamente limpio. Sobre la superficie del prisma se depositó una gota del jugo filtrado de cada muestra permitiendo que el equipo registrara automáticamente el valor de °Brix correspondiente al contenido de azúcares y otros solutos presentes (Pérez Fagua et al., 2024).

Tras cada lectura, el prisma se limpió cuidadosamente con agua destilada y pañitos sin pelusa para evitar la acumulación de residuos y asegurar la precisión del análisis en todas las muestras evaluadas.

### **3.7.4 Determinación de pH**

La determinación de pH se realizó utilizando un Potenciómetro digital (Modelo S80-K Seven Multi, Mettler Toledo) previamente calibrado con soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0, siguiendo las indicaciones del fabricante para asegurar la precisión del equipo. Una vez calibrado, el electrodo se sumergió directamente en el jugo filtrado de cada muestra (Aguilera-Aguirre et al., 2025).

Se esperó a que la lectura se estabilizara para registrar el valor correspondiente. Entre cada medición, el electrodo se enjuagó cuidadosamente con agua destilada para evitar contaminación cruzada y mantener la exactitud del análisis

### **3.7.5 Determinación de acidez titulable**

La acidez titulable se determinó empleando NaOH 0,1 N como agente titulante y fenolftaleína como indicador. Para cada análisis, se tomó una alícuota del jugo y se diluyó con agua destilada completar los 30 mL en un vaso de precipitación, luego se añadió 2 a 2 gotas de fenolftaleína para permitir la detección del punto final (Aguilera-Aguirre et al., 2025a).

La titulación se realizó añadiendo NaOH 0,1 N de manera gradual mientras se agitaba suavemente la muestra, deteniéndose cuando apareció un tono rosa pálido persistente durante al menos 30 segundos. Finalmente, se registró el volumen de NaOH para calcular la acidez titulable de cada muestra (Aguilera-Aguirre et al., 2025).

### **3.8 Escala de Severidad de Antracnosis en *Solanum betaceum*.**

Para evaluar el avance de la antracnosis en frutos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), se diseñó y adaptó una escala de severidad específica para esta investigación, debido a la ausencia de una escala válida para esta especie. La escala se adaptó tomando como referencia de Zapata-Narváez et al. (2021), sus criterios reportados para antracnosis en mango fueron adaptados y ajustados a las características morfológicas y patrones de infección observados en tomate de árbol durante las fases experimentales. La escala resultante clasifica la severidad en niveles ordinales basados en el porcentaje de superficie afectada, la presencia de lesiones características y la progresión de síntomas visibles, permitiendo una evaluación comparativa y reproducible entre tratamientos.

**Escala diagramática adaptada de severidad de antracnosis en tomate de árbol**



Elaborada con fotografías propias, adaptada para *Colletotrichum* spp.

Figura 7 Escala de Severidad de Antracnosis

Fuente: (La Autora, 2025)

**3.9 Incidencia de la enfermedad**

Para medir la incidencia de la antracnosis en el tomate de árbol, se evaluó la presencia del patógeno según la sintomatología de la enfermedad (Campo-Arana & Royet-Barroso, 2020). Se midió si hubo o no presencia mediante 0 (no presencia visible) y 1 (presencia visible); esta variable va en conjunto con severidad ya que ambas evalúan la antracnosis en el fruto, sin embargo, no miden lo mismo; la severidad mide el grado de daño o necrosis en el tejido del tomate mientras que la incidencia mide su presencia solamente (Herrera-González et al., 2024).

**3.10 Análisis estadístico**

Los datos estadísticos obtenidos por variable se resumieron mediante estadística descriptiva, expresándose sus valores de medianas acompañados de su desviación estándar, no como comparación sino como indicador de dispersión de los tratamientos según día de evaluación.

Se evaluó la normalidad Shapiro-Wilks de los datos para determinar si cumplían o no con una distribución normal con el fin de aplicar pruebas acorde a las variables establecidas. Para los datos que no cumplieron con la prueba de normalidad se aplicó Kruskal-Wallis (no paramétrica) y las variables que si cumplieron con la normalidad se aplicó ANOVA (paramétrica). Para detectar diferencias significativas, se realizaron comparaciones mediante una prueba post hoc, representándose así los grupos estadísticamente diferentes con letras.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Infostat considerando un nivel de significancia de  $p (<0,05)$ .

## **4 Resultados y discusión**

### **4.1 Inhibición de *Colletotrichum* spp**

Los datos fueron analizados de forma conjunta debido a que correspondieron a repeticiones independientes realizados en diferentes días. Cada variable se sometió a pruebas de normalidad Shapiro-Wilks para entender su comportamiento y según el resultado de estos aplicar pruebas estadísticas acorde a su normalidad la cual arrojó un valor de  $p < 0,05$ , lo que llevó al rechazo de la normalidad para Incidencia y Severidad.

#### **4.1.1 Incidencia**

La variable de incidencia corresponde a datos cualitativos de tipo ordinal, por lo que se analizaron mediante pruebas no paramétricas. Debido a que el estudio incluye la comparación de 20 tratamientos se optó por realizar la prueba de Kruskal-Wallis. A pesar de que la prueba de Wilcoxon reportó una diferencia estadística global significativa entre los días 5 y 8 ( $Z = -5,39$ ), el análisis individual por tratamiento reveló que la incidencia se mantuvo estadísticamente estable entre los días, dado que el p-valor de todos los tratamientos fue mayor a 0,05. Esta estabilidad sugiere que la fase de colonización del patógeno o la eficacia de los agentes de control (cepas B. m- Preventivo o H32) alcanzaron equilibrio temprano, impidiendo el progreso de la enfermedad durante el intervalo evaluado.

Tabla 2. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Incidencia entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis

Tratamientos	INCIDENCIA		
	DIA 5	DIA 8	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T2 (<i>Colletotrichum</i>)</b>	1,00 b	1,00 b	0,9998
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T4 (B.M-Curativo)</b>	0,00 ab	0,00 ab	>0,9999
<b>T5 (B.M-Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	1,00 b	1,00 ab	>0,9999
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	1,00 b	1,00 b	0,9998
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	1,00 ab	0,00 ab	>0,9999
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	1,00 b	1,00 b	0,9998
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	1,00 a	1,00 ab	>0,9999
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	1,00 b	1,00 b	0,9998
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	0,00 b	0,00 a	0,9998
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	1,00 b	1,00 b	0,9998
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	1,00 b	1,00 b	0,9998
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	0,00 ab	0,00 ab	>0,9999
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	0,00 ab	1,00 ab	0,426
<b>T20 (Químico)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998

Elaborado por: (La Autora, 2025)

Para la variable de incidencia del día 5 demostró que si existió diferencia estadística con un valor estadístico  $H=36,34$  y un  $p\text{-valor}= 0,0002$ , mientras que en el día 8 tenemos una diferencia estadística con el valor estadístico  $H= 32,02$  y un  $p\text{-valor}= 0,0002$ .

Los tratamientos evaluados en el día 5 revelaron que la cepa *Bacillus megaterium* no mostró presencia del fitopatógeno en los frutos; el tratamiento T3 (preventivo) presenta una mediana de (0,00 a) lo que indica no hay presencia de patógeno (Tabla 1). Sin embargo, que el tratamiento T4 (curativo) tampoco indica presencia con su mediana de 0,00 (ab) lo que

indica que comparte características estadísticas similares al grupo b del patógeno T2 como control negativo. En contraste con el control químico de los tratamientos T18, T19 y T20 donde tampoco presentó incidencia, los tratamientos T18 y T19 comparten grupos estadísticos ab y T 20 solo comparte con el testigo (T1). Como se puede observar en la Tabla 1, las diferencias estadísticas asignadas con letras a y b se muestra cómo se agrupan estos resultados; los tratamientos con la letra ``a `` no difieren del testigo y los tratamientos con la letra ``b`` se agrupan con el patógeno, mostrando mayor incidencia; los valores que comparten ``ab`` indican un comportamiento intermedio.

En comparación con los resultados obtenidos por Acurio-Vásconez & García-Bolívar (2024), sugiere que *Bacillus megaterium* podría ser una alternativa viable a los tratamientos químicos ya que puede reducir la incidencia de la enfermedad. Al evaluarlo al día 8 desarrollaron una diferencia significativa, al medir la incidencia en los tratamientos con la cepa B.m. tanto curativa y preventiva (T3 y T4) presentaron incidencia nula (0,00), en T4 con incidencia nula pero variabilidad en las repeticiones; en las diferencias estadísticas los tratamientos que comparten la misma letra ``ab`` indican comportamiento intermedio, los tratamientos con la letra ``a`` no difieren del testigo mientras que los tratamientos con la letra ``b`` mostraron mayor incidencia agrupándose con el patógeno.

#### 4.1.2 Severidad

En los resultados de la variable de severidad en el día 5 se demostró que si existió diferencia estadística con el valor estadístico  $H= 43,22$  y un  $p\text{-valor}= 0,0002$ , mientras que en el día 8, la diferencia estadística esta  $H= 43,56$  y un  $p\text{-valor}= 0,0001$ . Al someter a una prueba de diferencias estadísticas en ambos días resultó que, mediante Prueba Wilcoxon, si hay diferencias estadísticas con un  $p\text{-valor}= 0,0010$  y son significativamente altas con un

valor estadístico  $Z=-3,29$ . El desglose por tratamiento reveló un comportamiento heterogéneo donde la mayoría de los grupos se mantuvieron estadísticamente estables. Destaca el tratamiento T10 (H35-curativo), que presentó una reducción significativa de la severidad ( $p\text{-valor}=0,0262$ ), sugiriendo que el tejido se mantuvo estable en el día 8.

En el día 5 se observaron diferencias significativas entre tratamientos para la variable de severidad, donde el tratamiento con *Colletotrichum* (T2), considerado como control negativo, presentó los mayores valores de severidad (3,00), mientras que los tratamientos T3 (*B. m.* preventivo) y T9 (H35 preventivo) mostraron severidad nula, sin diferir estadísticamente del tratamiento testigo (T1), lo que evidencia un control efectivo de la enfermedad. Los tratamientos con valores intermedios de severidad (1,00–2,00), agrupados mediante las letras ab, bc y abc, reflejaron una reducción parcial de la enfermedad entre repeticiones. Al evaluar las mismas variables en el día 8, los resultados confirmaron diferencias significativas entre tratamientos, en concordancia con lo reportado por Silva y Jiménez et al. (2025). En cuanto a la severidad al día 8, el tratamiento T2 alcanzó el valor más alto (5,00), contrastando con el testigo y los tratamientos T3, T9 y T12, que evidenciaron severidad nula, confirmando su mayor eficacia en el control del patógeno, mientras que los tratamientos con valores intermedios (1,00–2,00) y letras ab a d reflejaron un control parcial de la enfermedad. Esto puede deberse a lipopéptidos que modifican la permeabilidad y composición de las membranas lipídicas, *B. megaterium* tienen la capacidad de reducir la severidad de enfermedades en frutos (Bustamante et al., 2015).

Para el tratamiento T0, en el día 8 se observa una disminución en las medianas, que corresponde a un efecto positivo, es decir, el tratamiento logra inhibir a *Colletotrichum*; Resultados similares a los obtenidos por este estudio los reporta Padrón Chan et al. (2025), al enfrentar cepas de *Bacillus* y fitopatógenos como *Corynespora cassicola* y *Fusarium oxysporum* donde se evidencia la presencia de lipopéptidos, este metabolito secundario

funciona como fungicida, en el tejido del tomate podría liberarse de a poco tras varios días hasta alcanzar las dosis máximas de inhibición para frenar al patógeno y reducir así la severidad del fruto.

*Tabla 3. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Severidad entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis*

Tratamientos	SEVERIDAD		
	DIA 5	DIA 8	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T2 (Colletotrichum)</b>	3,00 c	5,00 d	0,2552
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T4 (B. M-Curativo)</b>	1,00 abc	1,00 abcd	0,345
<b>T5 (B. M-Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	2,00 bc	1,00 abcd	>0,9999
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	2,00 bc	2,00 cd	0,6334
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	0,00 ab	0,00 ab	0,4788
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	2,00 bc	1,00 abc	0,0262 *
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	1,00 abc	0,00 ab	0,1614
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	1,00 abc	1,00 abcd	0,9998
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	2,00 bc	1,00 abcd	0,158
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	3,00 c	2,00 bcd	0,1586
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	0,00 a	1,00 abcd	0,4144
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	0,00 a	2,00 cd	0,3234
<b>T20 (Químico)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998

Elaborado por: (La Autora ,2025)

## 4.2 Sobrevivencia de *Bacillus* spp.

En la variable de sobrevivencia de *Bacillus* se aplicó una prueba de normalidad de Shapiro-Wilks, dando un p-valor menor al 0,05 rechazando una distribución normal de los datos, por ende, se analizaron los datos mediante Kruskal-Wallis para el día 3 y 5. Los resultados de sobrevivencia arrojaron que si existió diferencia estadística con el valor estadístico  $H= 51,01$  y  $p\text{-valor}= 0,0001$  en el día 8 y un valor estadístico  $H= 42,24$  y un  $p\text{-valor}= 0,0012$ . Al evaluar la diferencia estadística global entre los días se demostró que no hay diferencia entre el día 5 y 8 arrojando un p-valor mayor a 0,05 siendo este 0,8769. Esta tendencia general se ve reflejada en los p-valores de los tratamientos lo que indica estabilidad en las unidades experimentales entre días 5 y 8.

Tabla 4. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Supervivencia entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis

Tratamientos	SOBREVIVENCIA		
	DIA 5	DIA 8	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	0,00 ab	0,00 a	0,9998
<b>T2 (Colletotrichum)</b>	0,00 ab	0,00 a	0,9998
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	6,6 bcd	6,61 bcde	>0,9999
<b>T4 (B.M-Curativo)</b>	3,37 abc	7,67 de	0,4432
<b>T5 (B.M-Solo cepa)</b>	7,72 cd	7,54 cde	0,5274
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	6,49 abc	6,82 bcde	0,5028
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	3,34 abcd	6,62 abcde	>0,9999
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	7,69 cd	6,91 cde	>0,9999
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	6,86 cd	7,80 cd	0,2042
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	7,70 cd	7,79 cd	0,6836
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	7,81 cd	6,50 bcde	0,2576
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	7,55 cd	5,71 abcde	0,0684
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	7,89 d	5,88 abcd	0,0676
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	3,75 abcd	6,31 abcde	>0,9999
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	5,34 abc	3,37 abc	0,2574
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	1,96 abc	0,00 ab	0,4802
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	3,60 abc	3,62 abcd	0,7058
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998
<b>T20 (Químico)</b>	0,00 a	0,00 a	0,9998

Elaborado por: (La Autora ,2025)

Según se evidencia en la tabla 3, el valor de cero indica ausencia de supervivencia de las cepas de *Bacillus* bajo el criterio de UFC, para analizar los datos fue necesario convertirlos a logaritmo para que así el software estadístico pueda leer los datos y ofrecer un resultado real y concreto. Se observa que los tratamientos con mayor supervivencia en el día

5 son T13 que corresponde a 7,89 (d), T12 que corresponde a 7,81 (cd) y T9 con 7,72 (cd) y estadísticamente se diferenciaron del patógeno al mostrar un efecto protector. Los tratamientos químicos T18, T19 y T20 no mejoraron la sobrevivencia bajo las condiciones del ensayo.

En el mismo día de evaluación los mayores valores de sobrevivencia se registraron en los tratamientos O41 en modalidad curativa y preventiva, un estudio similar de (Silva & Jiménez, 2025) reportó las mismas cepas y su efectividad, así como en H35 aplicado solo y de forma preventiva, los cuales se diferenciaron estadísticamente del tratamiento con *Colletotrichum*. Los tratamientos químicos no mostraron efecto positivo sobre la sobrevivencia, presentando valores similares al patógeno.

En el día 8 de los tratamientos la sobrevivencia de las cepas de *Bacillus* disminuye, los tratamientos que sostuvieron el desarrollo son T4 que corresponde a 7,67 (de), T9 con 7,80 (cd), a comparación de los tratamientos químicos donde no hubo sobrevivencia (Tabla 3). Resultados concordantes fueron descritos por Escobar-Escobar et al. (2012), quienes analizaron la densidad poblacional de *Bacillus thuringiensis* durante un periodo de incubación de siete días, registrando concentraciones poblacionales elevadas y estables bajo condiciones de temperatura alta y pH ligeramente ácido. Estos resultados evidencian la capacidad de las bacterias del género *Bacillus* para adaptarse y sobrevivir en ambientes desfavorables, lo cual es consistente con los datos obtenidos en el presente estudio.

### **4.3 Pérdida de peso (%)**

En el análisis de pérdida de peso fue sometido la prueba de Shapiro-Wilks donde su p-valor demostró un p-valor menor al 0,05 (p-valor= 0,0001) lo que califica como datos paramétricos para aplicar (ANOVA) tanto para el día 5 y 8 y prueba post hoc de Tukey con

un nivel de significancia del 5%. Además, se aplicó Prueba T apareada para demostrar la diferencia entre los días 5 y 8, lo que arrojó fue que, con p-valor= 0,0201 es menor a 0,05 lo que nos indica una diferencia estadística entre ambos días. Al analizar la comparación por tratamiento tampoco se encontraron diferencias significativas explicándose que el peso fue una variable consistente entre los días 5 y 8.

El análisis de la pérdida de peso (%) mostró un comportamiento dinámico entre los periodos de evaluación (Tabla 4). Al Día 5, la mayoría de los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí, permaneciendo en el rango de "a" con valores inferiores al 1.05%; la única excepción notable fue el tratamiento T13 (O41-Curativo), que registró la mayor pérdida con un  $3.39 \pm 2.82$  (b). Sin embargo, hacia el Día 8, se observó un cambio relevante en la significancia estadística: mientras que todos los tratamientos preventivos, curativos y químicos lograron estabilizar la pérdida de peso en niveles mínimos (0.05 % a 0.22 %, grupo a), el tratamiento T2 (inoculado solo con *Colletotrichum*) se diferenció significativamente del resto con una pérdida del  $1.57 \pm 0.17$  (b).

Estos resultados sugieren que, aunque la severidad general del experimento fue baja en términos de biomasa perdida, la presencia del patógeno sin control (T2) genera un impacto medible que es mitigado eficazmente por las cepas biológicas (H32, H35, O41, S60) y el control químico. La reducción de la pérdida de peso también fue reportada por Muñóz (2011), quien indicó que la aplicación de inóculos bacterianos tres días previos a la cosecha disminuyó significativamente la pérdida de peso en los frutos, contribuyendo a una mejor conservación y a condiciones postcosecha más favorables. La efectividad de los tratamientos biológicos, que mantuvieron valores estadísticamente iguales al testigo sano (T1), demuestra su potencial para preservar la integridad del fruto frente al estrés causado por el hongo, igualando el desempeño de los fungicidas convencionales.

Tabla 5. Resultados media y D. E. (Desviación estándar) y p-valor de Pérdida de peso (%) para los días 5 y 8, con tres repeticiones cada día en ANOVA

Tratamientos	PERDIDA DE PESO (%)		
	DIA 5 ± D.E	DIA 8 ± D.E	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	0,20 ± 0,12 a	0,22 ± 0,14 a	0,3626
<b>T2 (Colletotrichum)</b>	0,56 ± 0,43 a	1,57 ± 0,17 b	0,0977
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	0,20 ± 0,05 a	0,11 ± 0,06 a	0,2402
<b>T4 (B.M-Curativo)</b>	0,30 ± 0,39 a	0,07 ± 0,03 a	0,4285
<b>T5 (B.M-Solo cepa)</b>	0,22 ± 0,14 a	0,10 ± 0,08 a	0,4146
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	0,49 ± 0,56 a	0,13 ± 0,05 a	0,3812
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	0,51 ± 0,49 a	0,09 ± 0,08 a	0,2555
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	0,73 ± 0,85 a	0,06 ± 0,03 a	0,311
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	0,22 ± 0,15 a	0,19 ± 0,17 a	0,8731
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	1,05 ± 1,20 a	0,22 ± 0,21 a	0,2864
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	0,33 ± 0,36 a	0,08 ± 0,04 a	0,3723
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	0,36 ± 0,22 a	0,15 ± 0,10 a	0,2769
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	3,39 ± 2,82 b	0,15 ± 0,04 a	0,1819
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	0,27 ± 0,26 a	0,05 ± 0,11 a	0,2875
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	0,43 ± 0,27 a	0,18 ± 0,06 a	0,3146
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	0,10 ± 0,01 a	0,14 ± 0,13 a	0,6541
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	0,18 ± 0,19 a	0,07 ± 0,02 a	0,4582
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	0,11 ± 0,04 a	0,10 ± 0,07 a	0,9122
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	0,18 ± 0,13 a	0,09 ± 0,05 a	0,4664
<b>T20 (Químico)</b>	0,07 ± 0,05 a	0,06 ± 0,04 a	0,851

Elaborado por: (La Autora, 2025)

#### 4.4 Firmeza del fruto

Al analizar la normalidad la variable de Firmeza en el fruto, sometida a prueba Sharipo-Wilks, demostró que, con un p-valor mayor a 0,05 lo que nos lleva a señalarlo como paramétrico y aplicar (ANOVA) tanto para el día 5 y 8 y prueba post hoc de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Además, se aplicó Prueba T apareada para demostrar diferencia entre los días 5 y 8, lo que arrojó fue que, con p-valor=0,2943 es mayor a 0,05 lo

que nos indica que no hay diferencia estadística entre ambos días. De manera individual por tratamiento, se muestra un incremento significativo en la firmeza al día 8, los tratamientos T5, T8, T9 y T19 mostraron un incremento (p-valor <0,05) lo que podría asociarse a procesos de lignificación o como respuesta de defensa estructural inducidas por los agentes biológicos (Jiménez-Maldonado et al., 2022). Por otro lado, los tratamientos como T6, T10 y T16 exhibieron una pérdida de firmeza estadísticamente significativa (p-valor<0,05), síntoma característico de la degradación de la pared celular causada por la actividad enzimática del patógeno(Zapata-Narváez et al., 2021). El análisis detallado o de cada tratamiento por día permitió identificar que cepas específicas lograron preservar o fortalecer la estructura del fruto frente a la infección.

Tabla 6. Resultados media y D. E. (Desviación estándar) y p-valor de Firmeza para los días 5 y 8, con tres repeticiones cada día en ANOVA

Tratamientos	FIRMEZA		
	DIA 5 ± D.E	DIA 8 ± D.E	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	11,90 ± 2,98 abcd	19,79 ± 1,44 f	0,0759
<b>T2 (Colletotrichum)</b>	5,19 ± 0,66 ab	3,54 ± 0,80 a	0,1081
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	12,95 ± 2,16 bcd	15,54 ± 1,21 ef	0,3055
<b>T4 (B.M-Curativo)</b>	3,13 ± 2,84 a	6,34 ± 2,13 abc	0,1879
<b>T5 (B.M-Solo cepa)</b>	8,19 ± 0,56 abcd	11,27 ± 0,80 e	0,0248*
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	15,71 ± 1,71 d	4,85 ± 0,57 ab	0,0052*
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	7,94 ± 3,17 abcd	3,23 ± 2,80 a	0,2591
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	11,55 ± 0,99 abcd	8,72 ± 1,89 bcd	0,0404*
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	5,27 ± 2,91 ab	15,79 ± 0,54 ef	0,0213*
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	5,53 ± 0,72 abc	3,65 ± 0,38 a	0,0318*
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	14,26 ± 3,66 cd	7,35 ± 1,83 abcd	0,1488
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	15,48 ± 3,93 d	16,21 ± 0,75 f	0,7762
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	8,87 ± 6,39 abcd	4,89 ± 0,51 ab	0,3931
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	8,00 ± 1,16 abcd	10,24 ± 2,81 cd	0,4295
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	9,77 ± 3,28 abcd	6,27 ± 0,57 abc	0,2483
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	5,53 ± 2,07 abc	2,77 ± 2,42 a	0,0280*
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	6,34 ± 5,49 abc	6,18 ± 2,51 abc	0,9406
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	9,81 ± 0,77 abcd	7,17 ± 0,60 abcd	0,0778
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	9,35 ± 1,01 abcd	6,29 ± 1,07 abc	0,0029*
<b>T20 (Químico)</b>	9,52 ± 0,23 abcd	9,09 ± 0,65 bcd	0,3066

Elaborado por: (La Autora, 2025)

El análisis de la firmeza reveló variaciones significativas entre los tratamientos a medida que avanzó el periodo de evaluación. Al Día 5, se observó una alta variabilidad; los tratamientos T6 (H32-Preventivo) y T12 (O41-Preventivo) presentaron los niveles más altos de firmeza inicial con 15,71 y 15,48 respectivamente (letra D). En contraste, el tratamiento T4 (B.m-Curativo) registró el valor más bajo en este punto con 3,13 (a), lo que indica una respuesta heterogénea en la etapa temprana del experimento.

Hacia el Día 8, el T1 (Testigo) y el T12 (O41-Preventivo) mostraron los valores de firmeza más elevados (19,79 y 16,21 respectivamente, letra F), lo cual podría estar asociado a procesos de deshidratación o endurecimiento anómalo en ausencia de un control efectivo de la maduración. Por otro lado, un grupo de tratamientos que incluye al T2 (Colletotrichum), T7 (H32-Curativo), T10 (H35-Curativo) y T16 (S60-Curativo) se agrupó en la categoría de menor firmeza (a), con valores entre 2,77 y 3,65. De acuerdo con Agravante et al. (1990), la disminución de la firmeza está asociada a la degradación enzimática de componentes estructurales de la pared celular, como pectinas y hemicelulosas, proceso que podría haberse atenuado mediante la aplicación directa de la cepa en ausencia del patógeno.

#### **4.5 Contenido de sólidos solubles (Brix)**

Para el análisis de la variable de Contenido de sólidos solubles, se sometió a prueba Shapiro-Wilks y demostrar la normalidad de sus datos, lo que arrojó fue p-valor  $< 0,05$  por lo que se aplicó Kruskal-Wallis; se evidenció un valor estadístico  $H= 36,37$  y p-valor= $0,0094$  para el día 5 y un valor estadístico  $H= 54,42$  y p-valor =  $<0,0001$ , lo que indica que en el día 8 sugiere que las diferencias entre tratamientos se intensificaron con el tiempo. Además, para evaluar la diferencia estadística entre ambos días de evaluación se aplicó Wilcox, arrojando p-valor= $<0,0001$  y  $Z= -4,62$ , es decir, si hay diferencias estadísticas altamente significativas entre los días 5 y 8. No obstante, mediante a misma prueba comparativa, se analizó individualmente y se reveló que no hay cambios estadísticamente significativos en sus niveles de azúcar entre ambos días arrojando p-valor= $>0,05$ .

Tabla 7. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Contenido de sólidos solubles (Brix) entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis

Tratamientos	°BRIX		
	DIA 5	DIA 8	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	6,05 abcde	9,15 de	0,196
<b>T2 (Colletotrichum)</b>	8,50 de	3,65 a	0,068
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	7,55 cde	10,30 e	0,1894
<b>T4 (B.M-Curativo)</b>	8,90 e	8,95 de	>0,9999
<b>T5 (B.M-Solo cepa)</b>	9,00 e	10,05 e	0,2256
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	4,75 abcde	7,35 abcd	0,4338
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	2,35 a	5,45 ab	0,7034
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	4,20 abcde	8,50 cde	0,192
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	6,15 abcde	7,55 abcde	0,1976
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	3,30 ab	5,45 abc	0,2042
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	3,70 abcd	8,45 bcde	0,193
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	4,05 abcd	10,25 e	0,1916
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	4,05 abcd	8,35 cde	0,1924
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	3,70 ab	9,05 de	0,1934
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	3,75 abc	4,65 ab	0,4376
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	3,55 ab	3,15 a	0,065
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	3,55 e	5,85 abc	0,1934
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	3,50 abc	8,55 bcde	0,1954
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	3,80 abc	6,15 abcd	0,1942
<b>T20 (Químico)</b>	5,00 bcde	6,40 abcd	>0,9999

Elaborado por: (La Autora, 2025)

El análisis mediante la prueba de Kruskal-Wallis para el contenido de sólidos solubles (°Brix) reveló diferencias significativas entre los tratamientos en ambas fechas de evaluación. Al Día 5, los valores más altos de °Brix se concentraron en los tratamientos T4 (B.m-Curativo) y T5 (B.m-Solo cepa) con un valor de 8.90 y 9.00 respectivamente (e). Por el contrario, el tratamiento T7 (H32-Curativo) presentó el nivel más bajo de azúcares con 2.35 (a).

Al Día 8, se observó una fluctuación notable en el metabolismo de los azúcares. Los tratamientos T3 (B. m-Preventivo), T5 (B.m-Solo cepa) y T12 (O41-Preventivo) alcanzaron los niveles máximos de acumulación, superando los 10.00 °Brix (e). En contraste, el tratamiento T2 (*Colletotrichum*) y el T16 (S60-Curativo) mostraron un descenso marcado, registrando los valores más bajos con 3,65 y 3,15 respectivamente (letra a), diferenciándose estadísticamente del resto de los grupos.

La variabilidad observada en los grados Brix sugiere un impacto diferenciado de los agentes de control biológico sobre el proceso de maduración y el metabolismo de carbohidratos del fruto. Al Día 8, la caída drástica en los niveles de Brix del tratamiento T2 (solo patógeno) y T16 (3,65 y 3,15) podría atribuirse al consumo de azúcares por parte del hongo *Colletotrichum* para su propio desarrollo metabólico o a una degradación acelerada del tejido (Muñoz, 2011).

En contraste, el hecho de que tratamientos como el T3, T5 y T12 mantuvieran o incrementaran sus niveles de Brix (superiores a 10) indica que estos agentes biológicos no solo podrían estar frenando la colonización del patógeno, sino también permitiendo que el fruto continúe su proceso natural de maduración (acumulación de azúcares) de manera más eficiente que el control químico (T20: 6,40). Estos resultados concuerdan con los descritos por Acurio-Vásquez & García-Bolívar (2024) quienes demostraron que el uso de cepas de *Bacillus* spp mantienen de niveles altos de sólidos solubles es un indicador de calidad comercial deseable en comparación a los tratamientos químicos. Se sugiere que las cepas B.m (T3, T5) y O41 (T12) son las más prometedoras para preservar las características organolépticas del fruto bajo presión de inóculo.

#### **4.6 Acidez titulable**

Para determinar la acidez titulable se sometió a prueba Shapiro-Wilks y demostrar la normalidad de sus datos, lo que arrojó fue p-valor  $< 0,05$  lo que la determina como no paramétrica procediendo a Kruskal-Wallis, reportando en esta prueba un valor estadístico  $H= 45,15$  y p-valor=  $0,0002$  en el día 5 y un valor estadístico  $H= 40,86$  y p-valor=  $0,0025$  donde se evidencia que si hay diferencia estadística. Para evaluar la diferencia estadística en en ambos días (5 y 8), se aplicó Wilcoxon, que arroja un p-valor=  $0,5218$  (bilateral), siendo este valor mayor a  $0,05$  no se demuestra diferencia estadística entre estos días,  $Z=0,52$  que representa estabilidad en los tratamientos, esta se puede evidenciar al observar los p-valores individuales, donde ningún tratamiento reportó variación estadísticamente significativa (p-valor $>0,05$ ).

Tabla 8. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor en la variable de Acidez (%) entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis

Tratamientos	ACIDEZ (%)		
	DIA 5	DIA 8	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	0,49 abc	0,45 a	0,5234
<b>T2 (Colletotrichum)</b>	0,32 e	0,98 f	0,4746
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	0,48 abc	0,44 ab	0,5452
<b>T4 (B.M-Curativo)</b>	0,39 a	0,60 abcdef	0,1892
<b>T5 (B.M-Solo cepa)</b>	0,45 ab	0,61 abcdef	0,1974
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	0,6 bcde	0,69 def	0,5356
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	0,68 cde	0,54 abcd	0,2588
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	0,52 abcd	0,55 abcd	0,4848
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	0,51 abcd	0,47 ab	0,2788
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	0,69 cde	0,68 abcdef	0,2664
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	0,46 abc	0,51 abc	0,6704
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	0,66 bcde	0,54 abcd	0,0688
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	0,75 de	0,85 ef	>0,9999
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	0,41 ab	0,52 abcd	0,4622
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	0,72 de	0,68 cdef	0,2866
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	0,99 de	0,99 f	0,7326
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	0,46 ab	0,47 abcd	0,4662
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	0,52 abcde	0,65 bcdef	0,1994
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	0,68 bcde	0,55 abcde	0,524
<b>T20 (Químico)</b>	0,66 bcde	0,55 abcde	>0,9999

Elaborado por: (La Autora, 2025)

Al Día 5, el tratamiento T16 (S60-Curativo) registró el nivel más alto de acidez con un 0,99 % (letras de), mientras que el valor más bajo correspondió al tratamiento T4 (B.m-Curativo) con 0,39% (a). En esta etapa inicial, el patógeno solo (T2) se situó en un nivel intermedio-bajo de 0,32% (e).

Hacia el Día 8, se observó una respuesta clara al proceso infeccioso y al tratamiento. Los niveles de acidez más elevados se presentaron en el T2 (*Colletotrichum*) y nuevamente en el T16 (S60-Curativo), ambos con un 0,98% y 0,99% respectivamente (f). Por el

contrario, los tratamientos T1 (Testigo sano), T3 (B.m-Preventivo) y T9 (H35-Preventivo) mantuvieron los niveles de acidez más bajos, fluctuando entre 0,44% y 0,47% (a y ab). El control químico (T20) se mantuvo en un rango intermedio con 0,55%.

El incremento sustancial de la acidez en el tratamiento T2 (*Colletotrichum*) al octavo día de 0,32% a 0,98% sugiere una respuesta metabólica del fruto ante la invasión fúngica, posiblemente relacionada con la acumulación de ácidos orgánicos como mecanismo de defensa o debido a la degradación de tejidos por la actividad del patógeno (Aguilera-Aguirre et al., 2025b). Es notable que el tratamiento T16 (S60-Curativo) mantuviera niveles de acidez idénticos al patógeno solo, lo que podría indicar una menor eficacia de esta cepa específica bajo el protocolo curativo para regular el estrés metabólico del fruto.

En contraste, los tratamientos preventivos como el T3 (B.m-Preventivo) y T9 (H35-Preventivo) lograron mantener la acidez en niveles estadísticamente similares al testigo sano (T1). Esta estabilidad sugiere que la aplicación preventiva de estas cepas biológicas logra mitigar las alteraciones bioquímicas que normalmente induce la infección por *Colletotrichum*, preservando un perfil de maduración más equilibrado y similar al de un fruto no infectado. Estos resultados, sumados a los niveles óptimos de °Brix observados anteriormente en el T3, refuerzan su potencial como el tratamiento más consistente para el manejo postcosecha. Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Luis-Ayala et al. (2014) quienes al evaluar el efecto de Pyraclostrobin + Epoxiconazole en la producción de fresa no observaron diferencias estadísticamente significativas, aunque sí registraron un incremento durante el periodo de cosecha. De manera similar, Macedo et al. (2017) señalaron que la aplicación de estos fungicidas químicos puede favorecer el aumento del contenido de sólidos solubles (°Brix) en melón cantaloupe.

## 4.7 pH

Finalmente, para la variable de pH se somete a Shapiro-Wilks y evaluar su normalidad, arrojó p-valor  $< 0,05$  lo que demuestra que sus datos son no paramétricos y se procede a aplicar Kruskal-Wallis; nos muestra un valor estadístico  $H= 40,37$  y p-valor= $0,0029$  para el día 5 y, un valor estadístico  $H= 36,23$  y p-valor= $0,0099$  en el día 8, esto dice que si existen diferencias significativas. Para evaluar la diferencia estadística de ambos tratamientos se sometió a Wilcoxon, determinando que p-valor= $0,9179$  siendo que no hay diferencia estadística y  $Z= 0,10$  nos indica que los frutos no sufrieron alteraciones estadísticamente significativas durante el periodo de evaluación. El análisis por tratamiento refuerza esta observación, ya que ningún grupo mostró cambios significativos entre el día 5 y 8 (p-valor  $>0,05$ ).

Tabla 9. Resultados de las medianas, post-hoc y p-valor de la variable de pH entre los días 5 y 8, con tres repeticiones por día en la prueba Kruskal-Wallis

Tratamientos	pH		
	DIA 5	DIA 8	P-VALOR (entre ambos días)
<b>T1 (Testigo)</b>	4,65 def	3,38 abc	0,067
<b>T2 (Colletotrichum)</b>	3,91 a	6,13 e	0,918
<b>T3 (B. M-Preventivo)</b>	4,49 cdef	3,46 a	0,0714
<b>T4 (B.M-Curativo)</b>	4,33 abcd	4,10 abc	>0,9999
<b>T5 (B.M-Solo cepa)</b>	4,69 def	3,55 ab	0,0714
<b>T6 (H32-Preventivo)</b>	4,25 abcde	4,44 abcde	>0,9999
<b>T7 (H32-Curativo)</b>	5,01 ef	4,17 abc	0,0702
<b>T8 (H32-Solo cepa)</b>	3,99 abcd	4,11 abcd	>0,9999
<b>T9 (H35-Preventivo)</b>	4,47 cdef	4,04 abcd	0,07
<b>T10 (H35-Curativo)</b>	4,58 abcdef	4,69 bcde	0,4544
<b>T11 (H35Solo cepa)</b>	4,14 abcde	3,39 abc	0,0702
<b>T12 (O41-Preventivo)</b>	4,47 abcde	3,69 ab	0,2794
<b>T13 (O41-Curativo)</b>	4,03 abc	4,32 abc	>0,9999
<b>T14 (O41-Solo cepa)</b>	4,29 bcdef	3,78 abc	0,2842
<b>T15 (S60-Preventivo)</b>	4,22 abcde	4,82 cde	0,1924
<b>T16 (S60-Curativo)</b>	4,15 abcd	5,77 abcde	>0,9999
<b>T17 (S60-Solo cepa)</b>	3,03 a	4,19 abcde	0,1994
<b>T18 (Químico-Preventivo)</b>	5,5 def	5,60 de	0,7028
<b>T19 (Químico-Curativo)</b>	6,46 f	6,40 e	>0,9999
<b>T20 (Químico)</b>	3,53 ab	4,80 bcde	0,1916

Elaborado por: (La Autora, 2025)

Para esta última tabla correspondiente al pH, que también utiliza la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, se analiza la estabilidad de la acidez iónica del fruto, la cual es un indicador crítico del estado de maduración y de la actividad metabólica inducida por el patógeno.

El análisis de pH mediante la prueba de Kruskal-Wallis mostró variaciones significativas entre los tratamientos durante el ensayo. Al Día 5, el tratamiento T19 (Químico-Curativo) registró el valor de pH más alto con 6,46 (f), mientras que los valores más ácidos se observaron en el T2 (*Colletotrichum*) y T17 (S60-Solo cepa) con 3,91 y 3,03 respectivamente (a). El Testigo (T1) se mantuvo en un nivel intermedio de 4,65.

Hacia el Día 8, se produjo una inversión notable en el comportamiento del pH para ciertos grupos. El tratamiento T2 (*Colletotrichum*) incrementó drásticamente su valor hasta 6,13 (e), situándose como uno de los menos ácidos junto con los tratamientos químicos (T18 y T19). Por el contrario, el T3 (B.m-Preventivo) y el T11 (H35-Solo cepa) presentaron los descensos más significativos, alcanzando valores de 3,46 y 3,39 (a), niveles estadísticamente similares al Testigo (T1) que bajó a 3,38.

El aumento pronunciado del pH en el tratamiento T2 (inoculado solo con el patógeno) al octavo día es un indicador característico de la degradación avanzada de tejidos por *Colletotrichum* (Viencz et al., 2023). Este fenómeno suele asociarse a la desanimación de aminoácidos y la liberación de amoníaco por parte del hongo para alcalinizar su entorno y facilitar la actividad de sus enzimas pectolíticas, lo que acelera la pudrición (Bustamante et al., 2015).

## Conclusiones

➤ Los resultados evidenciaron que la aplicación preventiva de cepas de *Bacillus* spp. fue más eficaz que la aplicación curativa para el control de *Colletotrichum* spp. En particular, los tratamientos con las cepas O41 (T12) y H35 (T9) mantuvieron valores de firmeza superiores al día 8 (15,93 y 16,04, respectivamente), superando tanto al testigo infectado como al control químico.

➤ El análisis del pH demostró el avance real de la enfermedad, los frutos sanos y tratamientos preventivos mantuvieron un ambiente ácido y estable (3,38 – 3,69), los tratamientos inoculados solo con *Colletotrichum* (T2) sufrieron una alcalinización, arrojando hasta un pH de 6,13 al octavo día. Este cambio químico confirma que el hongo logra manipular el entorno del fruto para degradarlo, un proceso que los tratamientos biológicos lograron bloquear por completo.

➤ La variable de Contenido de sólidos solubles permitió explicar que los valores de grados Brix determinan el equilibrio metabólico. Los niveles muy altos de °Brix pueden ser ambiguos; el tratamiento T4 (B.m-Curativo) mostró mucha dulzura (8,95 °Brix) pero una firmeza muy pobre, lo que demuestra una maduración forzada por el estrés de la infección. Mientras que el tratamiento T12 (O41), permitió que la fruta gane azúcar naturalmente (10,25 °Brix) manteniendo una estructura firme y comercialmente atractiva.

➤ Los resultados de incidencia y severidad confirman que el control biológico preventivo reduce el impacto visual de la enfermedad. Mientras que el testigo infectado solo con *Colletotrichum* (T2) alcanzó los niveles máximos de daño, tratamientos como el T3

(B.m-Preventivo) mantuvieron niveles de incidencia y severidad en 0,00 durante los primeros 5 días. Esto valida que el uso de estas cepas es una solución real para evitar que las manchas de *Colletotrichum* aparezcan y arruinen la estética del producto para la venta.

➤ La pérdida de peso es la variable más resistente al cambio. Estadísticamente, no hubo diferencias significativas entre aplicar químicos ó biológicos manteniéndose pérdidas mínimas (generalmente menores al 0,22 %) hasta el día 8. Esto indica que los agentes de control biológico realizan su trabajo de protección sin alterar la respiración natural ni dañar la cutícula del fruto, garantizando que el producto no se deshidrate prematuramente durante su almacenamiento.

➤ La evaluación integral determinó que, las variables de Severidad y Firmeza fueron indicadores determinantes en la eficiencia biológica; En conjunto estos resultados confirman que el uso de agentes de control biológico permite estabilizar la calidad comercial del fruto y mitigar el avance de *Colletotrichum* sin alterar su metabolismo natural de maduración.

## 5 Recomendaciones

- Como estrategia para optimizar el proceso de obtención de datos de incidencia, se recomienda que, al momento de adquirir las unidades experimentales, se escoja frutos en estado de madurez fisiológica temprana, ya que el grado de madurez puede alterar los resultados tanto fisicoquímicos como biológicos
- Se sugiere que en los próximos trabajos académicos se profundice en la actividad bioquímica y molecular durante el proceso de infección de *Colletotrichum* spp, con el fin de esclarecer los mecanismos de acción mediante los cuales *Bacillus* spp. Ejerce su efecto antagonico y modula la respuesta defensiva del fruto.

## 6 Bibliografía

- Acurio-Vásconez, R. D., & García-Bolívar, J. J. (2024). Efecto de *Bacillus megaterium* en el cultivo de fresa. *Agronomía Mesoamericana*, 59611. <https://doi.org/10.15517/am.2024.59611>
- Adame García, J., Murillo Cuevas, F. D., Velázquez Mendoza, V., López Vázquez, M., Antonio Vázquez, E., Cabrera Mireles, H., & Villegas Narváez, J. (2021). Identificación molecular y evaluación de bacterias en el desarrollo vegetativo y producción de chile habanero. *Biotechnia*, 23(3). <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v23i3.1480>
- Agravante, J. U., Matsui, T., & Kitagawa, H. (1990). STARCH BREAKDOWN AND CHANGES IN AMYLASE ACTIVITY DURING RIPENING OF ETHYLENE- AND ETHANOL-TREATED BANANAS. *Acta Horticulturae*, 296(269), 133–140. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1990.269.18>
- Aguilera-Aguirre, S., Aldape-Santoyo, J. F., Abraham-Juárez, Ma. del R., Montalvo-González, E., Ortiz-Basurto, R. I., & Chacón-López, M. A. (2025a). Estudio de *Bacillus subtilis* en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en precosecha y su efecto en las propiedades fisicoquímicas en postcosecha. *Revista Bio Ciencias*. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1768>
- Aguilera-Aguirre, S., Aldape-Santoyo, J. F., Abraham-Juárez, Ma. del R., Montalvo-González, E., Ortiz-Basurto, R. I., & Chacón-López, M. A. (2025b). Estudio de *Bacillus subtilis* en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en precosecha y su efecto en las propiedades fisicoquímicas en postcosecha. *Revista Bio Ciencias*. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1768>
- Ángel García, C., Robledo Buriticá, J., & Castaño Zapata, J. (2018). Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium solani* f. sp. *passiflorae* en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 21(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n1.2018.659>
- Armas-Vega, F. V., Posso-Machado, M. T., Puruncajas-Segarra, W. A., & Parise-Vasco, J. M. (2023). Una mirada a la agricultura en el Ecuador con una perspectiva social. *Revista Publicando*, 10(38), 14–23. <https://doi.org/10.51528/rp.vol10.id2374>
- Ayala-Tafoya, F., María Zatarain-López, D., Valenzuela-López, M., Partida-Ruvalcaba, L., de Jesús Velázquez-Alcaraz, T., Díaz-Valdés, T., & Osuna-Sánchez, J. A. (2015). Growth and Yield of Tomato in Response to Sun Radiation Transmitted by Shade Nets. *TERRA LATINOAMERICANA*, 29, 404–410.
- Barroso-Ake, A. C., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna Chávez, E., Tucuch-Pérez, M. A., Olalde-Portugal, V., & Robles-Yerena, L. (2021). Manejo in vitro de antracnosis (*Colletotrichum acutatum* Simmonds) en aguacate mediante el uso de principios activos botánicos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(2). <https://doi.org/10.19136/era.a8n2.3038>
- Bautista-Ortega, P. I., Hernández-Hernández, I., Pérez-Pérez, R., Soria-Leal, S.-L. L. Y., & Chávez-Avilés, M. N. (2022). Modulación diferencial de la actividad enzimática lítica de la pared celular entre *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* durante el biocontrol de *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(6), 732–768. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v6i6.3568](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i6.3568)

- Bustamante, M. R., Escuela, S., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2015). *Obtención y evaluación in vitro de metabolitos secundarios de dos cepas de Bacillus subtilis contra el hongo fitopatógeno Fusarium spp.*
- Cadena, V., & López, A. (2021). *Identificación de hongos con potencial biocontrolador de Colletotrichum sp., en cultivo de tomate de árbol (Solanum betaceum), en la provincia de Tungurahua.* Universidad Politécnica Salesiana.
- Calapiña, R. (2022). "EVALUACIÓN DE BIO ESTIMULANTES EN EL CULTIVO DE TOMATE DE ÁRBOL (SOLANUM BETACEUM). EN EL CANTÓN MEJÍA, PROVINCIA DE PICHINCHA." UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI .
- Calderón-Toledo, S., Tapia-Bañez, Y., Jiménez-Aliaga, K., Esquerre-Huallpa, C., & Zavaleta, A. I. (2023). Caracterización bioinformática y producción de L-asparaginasa de Bacillus sp. M62 aislado de las salinas de Maras, Cusco, Perú. *Revista Peruana de Biología*, 30(1), e22411. <https://doi.org/10.15381/rpb.v30i1.22411>
- Campo-Arana, R. O., & Royet-Barroso, J. D. J. (2020). La antracnosis del ñame y estrategias de manejo: una revisión. *Temas Agrarios*, 25(2), 190–201. <https://doi.org/10.21897/rta.v25i2.2458>
- Cartuche, V. (2024). *Caracterización morfológica y fenológica en tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) en la Quinta Experimental Docente La Argelia de la Universidad Nacional de Loja .* Universidad Nacional de Loja .
- Escobar-Escobar, N., Delgado J. M., Jaime, N., & Jola R. (2012). *IDENTIFICACIÓN DE POBLACIONES MICROBIANAS EN COMPOST DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE FINCAS CAFETERAS DE CUNDINAMARCA.*
- Gañán, L., Álvarez, E., & Castaño Zapata, J. (2015). Identificación genética de aislamientos de Colletotrichum spp. causantes de antracnosis en frutos de aguacate, banano, mango y tomate de árbol. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(152), 339–347. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.192>
- García-Jaramillo, D. J., López-Zapata, S. P., Bustamante-Granada, S., López, W. R., Castaño-Zapata, J., & Ceballos-Aguirre, N. (2022). Reacción y rendimiento de microinjertos de tomate (Solanum spp.) inoculados con Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici (Sacc.) Snyder & Hansen causante del marchitamiento vascular. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 46(180), 714–729. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1688>
- García-Mateos, M. R., Acosta-Ramos, M., Rodríguez-Pérez, E., Vásquez-Sánchez, J., & Hernández-Ramos, L. (2021). Extractos vegetales para el control de Colletotrichum gloeosporioides in vitro y en periodo de floración y poscosecha del fruto de Carica papaya. *Polibotánica*, 0(51). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.51.14>
- González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2022). Bacillus subtilis y Trichoderma: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520>

- Guamán-Rivera, S. A., & Flores-Manchano, C. I. (2023). Seguridad Alimentaria y Producción Agrícola Sostenible en Ecuador. *Revista Científica Zambos*, 2(1), 1–20. <https://doi.org/10.69484/rcz/v2/n1/35>
- Guevara-Suarez, M., Cárdenas, M., Jiménez, P., Afanador-Kafuri, L., & Restrepo, S. (2022). Colletotrichum Species Complexes Associated with Crops in Northern South America: A Review. *Agronomy*, 12(3), 548. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030548>
- Haddoudi, I., Cabrefiga, J., Mora, I., Mhadhbi, H., Montesinos, E., & Mrabet, M. (2021). Biological control of Fusarium wilt caused by Fusarium equiseti in Vicia faba with broad spectrum antifungal plant-associated Bacillus spp. *Biological Control*, 160, 104671. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104671>
- Herrera-González, J. A., Bautista-Baños, S., Serrano, M., Ramos-Bell, S., & Gutiérrez-Martínez, P. (2024). Colletotrichum siamense causante de antracnosis en poscosecha de aguacate ‘Hass.’ *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 15(5), e3434. <https://doi.org/10.29312/remexca.v15i5.3434>
- Hirozawa, M. T., Ono, M. A., Suguiura, I. M. de S., Bordini, J. G., & Ono, E. Y. S. (2023). Lactic acid bacteria and Bacillus spp. as fungal biological control agents. *Journal of Applied Microbiology*, 134(2). <https://doi.org/10.1093/jambio/lxac083>
- Jiménez, L. A. (2022). *Establecimiento y conservación de accesiones nativas de tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) en la Quinta Experimental Docente la “Argelia” Loja, Ecuador* [Universidad Nacional de Loja]. <https://agris.fao.org/search/en/providers/124878/records/68515fb753e52c13fc765064>
- Jiménez-Maldonado, M. I., Tovar-Pedraza, J. M., León-Félix, J., Muy-Rangel, M. D., & Islas-Osuna, M. A. (2022). Respuesta fisiológica y calidad de mango cv Ataulfo infectado por Colletotrichum spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(6), 1103–1115. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i6.3028>
- Larrea-Izurieta, I., Falconí Borja, C., & Arcos-Andrade, A. (2015). Aislamiento y caracterización de cepas de Bacillus spp. con actividad contra Tetranychus urticae Koch en cultivos comerciales de rosas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(2), 140–148. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n2.54291>
- Lema, X., Jácome, C., Arguello, Y., & Andrade-Cuvi, M. J. (2023). Medición del rendimiento de la cadena alimentaria del tomate de árbol. Estudio de caso en Quito- Ecuador. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 24, 9–10. <https://www.redalyc.org/journal/813/81376287003/81376287003.pdf>
- Luis-Ayala, M., Alamaza, P., & Serrano-Cely, P. (2014). Efecto de Pyraclostrobin+Epoxiconazole en la producción de fresa (Fragaria sp.). *Revista Ciencia y Agricultura*, 11(1), 35–45.
- Macedo, A. C., Amaro, A. C. E., Ramos, A. R. P., Ono, E. O., & Rodrigues, J. D. (2017). Strobilurin and boscalid in the quality of net melon fruits. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(2), 543. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n2p543>
- Marcial, L., Martínez, A., León, J., Suárez, A., & Viera, W. (2023). DESARROLLO DEL FRUTO EN CULTIVARES DE TOMATE DE ÁRBOL (Solanum betaceum Cav.). *Perfiles*, 1(29), 30–39. <https://doi.org/10.47187/perf.v1i29.200>

- Martinez-Netro, K. J., Ríos-Aceves, K. E., Rubio-Tinajero, S., Reyes-Hernández, J., & Osorio-Hernández, E. (2025). Microorganismos edáficos de Edaphic microorganisms of *Saccharum officinarum*; antagonism of *Bacillus* spp. against *Colletotrichum* spp. and *Endocalyx* spp. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 12(2). <https://doi.org/10.19136/era.a12n2.4093>
- Matos, A., Trasmonte, W., Godenzi, J., Ludeña, A., & Cabrejos, E. (2022). Efecto del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) en la conservación de frutos de durazno (*Prunus pérsica*). *Revista Científica Pakamuros*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.37787/pakamuros-unj.v10i1.264>
- Moreno-Miranda, C., Molina, J. I., Ortiz, J., Peñafiel, C., & Moreno, R. (2020). Cadena de valor en la red de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Ecuador. *Agronomía Mesoamericana*, 13–29. <https://doi.org/10.15517/am.v31i1.36887>
- Muñoz, C. (2011). *Combate biológico del moho gris (Botrytis cinerea) bajo dos condiciones de almacenamiento, del fruto de fresa (Fragaria x ananassa) C.V. Albión*. Universidad Técnica de Ambato.
- Padrón Chan, A. de M., Reyes Ramírez, A., Camacho Chab, J. C., & Ortega Morales, B. O. (2025). Lipopéptidos extraídos de *Bacillus subtilis* F8 presentan actividad biosurfactante e inhiben el crecimiento fúngico de *Corynespora cassiicola* y *Fusarium oxysporum*. *Biotecnia*, 27, e2631. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v27.2631>
- Patricio, H., & Gualán, L. (2024). *Caracterización morfológica in situ del tomate de árbol silvestre Solanum spp en las provincias de Loja y Zamora Chinchipe* [Universidad Nacional de Loja]. <https://agris.fao.org/search/en/providers/124878/records/68515fd553e52c13fc7652f1>
- Pérez Fagua, C., Deaquiz Oyola, Y. A., Silva Parra, A., Cely Reyes, G. E., & Almanza Merchán, P. J. (2024). Caracterización fisicoquímica de siete variedades de manzana (*Malus domestica* Borkh) establecidas en trópico alto. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 16(1), 357–376. <https://doi.org/10.22490/21456453.8141>
- Rayón-Díaz, E., Birke-Biewendt, A. B., Velázquez-Estrada, R. M., González-Estrada, R. R., Ramírez-Vázquez, M., Rosas-Saito, G. H., & Gutierrez-Martinez, P. (2021). Sodium silicate and chitosan: an alternative for the in vitro control of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from papaya (*Carica papaya* L.). *Revista Bio Ciencias*, 8. <https://doi.org/10.15741/revbio.08.e1059>
- Romero, J., Santa-Bárbara, A. E., Moral, J., Agustí-Brisach, C., Roca, L. F., & Trapero, A. (2022). Effect of latent and symptomatic infections by *Colletotrichum godetiae* on oil quality. *European Journal of Plant Pathology*, 163(3), 545–556. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02494-x>
- Rubio-Sosa, A., Martínez-Bolaños, M., Gómez-Leyva, J. F., Lozano-Trejo, S., Castañeda-Hidalgo, E., & Diaz-Zorrilla, G. O. (2025). Inhibition of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose in coffee (*Coffea arabica*) using native isolates of *Trichoderma* sp. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 43(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2307-1>

- Saavedra, R., Vasquez, R., & Sorroza, L. (2024). Aislamiento e identificación de *Bacillus* spp. del manglar: Características morfológicas, bioquímicas, fisiológicas y pruebas de inhibición. *Manglar*, 21(4), 507–516. <https://doi.org/10.57188/manglar.2024.055>
- Santos, L. de M., De Moura, J. B., Lopes Filho, L. C., Teixeira, M. F., & Peixoto, J. de C. (2023). Bioinputs: a sustainable alternative to traditional pesticide cultivation. *OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA*, 21(12), 24777–24816. <https://doi.org/10.55905/oelv21n12-073>
- Silva, A., & Jiménez, K. (2025). *BACTERIAS DEL GÉNERO Bacillus COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO IN VITRO DE LOS HONGOS FITOPATÓGENO Botrytis sp. Y Colletotrichum sp.* Universidad Politécnica Salesiana.
- Souza, R. L. de, Brito, R. S. de, Mesquita, F. R., Souza, M. C. de, Silva, M. C. da, Archanio, B. S., Alves, W. F., & Nascimento, L. de O. (2023). Evaluation of the Fungitoxic Activity of Copaiba Oil (*Copaifera* spp.) from Western Amazon against Anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.) in Papaya (*Carica papaya* L.). In *Harmony of Knowledge: Exploring Interdisciplinary Synergie*. Seven Editora. <https://doi.org/10.56238/sevened2023.006-056>
- V. Cadena, & A. López. (2021). *IDENTIFICACIÓN DE HONGOS CON POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE Colletotrichum sp., EN CULTIVO DE TOMATE DE ÁRBOL (Solanum betaceum), EN LA PROVINCIA DE TUNGURAHUA.* UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO.
- Valdés, L. A., Calero Consuegra, D. L., Gómez, A., Carballo, M. E., Capote, M., González, I., Alvarez, J. M., & Rohde, W. (2017). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, CULTURAL Y PATOGENICA DE AISLADOS DE *colletotrichum* sp. PRODUCIENDO ANTRACNOSIS EN MANGO (*mangifera indica* L.). *La Granja*, 26(2), 38. <https://doi.org/10.17163/lgr.n26.2017.04>
- Viençz, T., Malmann Nedilha, L. C., Marek, J., Duarte Rios Faria, C. M., & Vasconcelos Botelho, R. (2023). *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* on the quality and occurrence of anthracnose in bananas. *Comunicata Scientiae*, 14, e3701. <https://doi.org/10.14295/cs.v14.3701>
- Villaseñor-Tulais, F., Hernández-Muñoz, S., Pedraza-Santos, M. E., Chávez-Bárceñas, A. T., Santoyo, G., & Orozco-Mosqueda, Ma. del C. (2023). *Pseudomonas fluorescens* UM270 promueve el crecimiento y producción en tomate de cáscara. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 14(4), 627–632. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i4.3017>
- Yadir Gómez Gómez, E., & Quintero Echeverri, J. (2025). *Germinación de semillas de la especie silvestre de tomate árbol (Solanum sibundoyensis).* <https://agris.fao.org/search/en/providers/125312/records/682f1e429d0aa4165340775b>
- Zapata-Narváez, Y. A., Izquierdo-García, L. F., Botina-Azaín, B. L., & Beltrán-Acosta, C. R. (2021a). Efficacy of microbial antagonists and chitin in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in postharvest of mango cv. Azúcar. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 39(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2102-1>

Zapata-Narváez, Y. A., Izquierdo-García, L. F., Botina-Azaín, B. L., & Beltrán-Acosta, C. R. (2021b). Efficacy of microbial antagonists and chitin in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in postharvest of mango cv. Azúcar. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 39(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2102-1>