



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

“EVALUACIÓN DE *Bacillus amyloliquefaciens* P. EN EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* P. EN *Rosa sp.* VARIEDAD ORANGE CRUSH, CAYAMBE”

Trabajo de grado previa a la obtención del Título de Ingeniero Agropecuario

AUTORA:

Sandra Verónica Campués Cholca

DIRECTORA:

Lucía del Rocío Vásquez Hernández, PhD.

Ibarra, 2023

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN

CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

ESCUELA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

“EVALUACIÓN DE *Bacillus amyloliquefaciens* P. EN EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* P. EN *Rosa* sp. VARIEDAD ORANGE CRUSH, CAYAMBE”

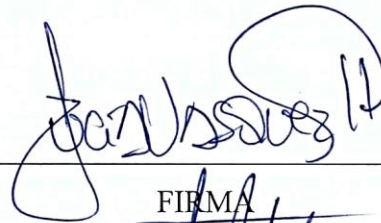
Trabajo de grado revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación
como requisito parcial para obtener Título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

APROBADO:

PhD. Lucía del Rocío Vásquez Hernández

DIRECTOR



FIRMA

MSc. Telmo Fernando Basantes Vizcaino

OPONENTE



FIRMA

MSc. Miguel Vinicio Aragón Esparza

OPONENTE



FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	DE	1720608759	
APELLIDOS Y NOMBRES:	Y	Sandra Verónica Campués Cholca	
DIRECCIÓN:		Parroquia Olmedo	
EMAIL:		svcampuesc@utn.edu.ec	
TELÉFONO FIJO:		TELÉFONO MÓVIL:	0983877504

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	“EVALUACIÓN DE <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> P. EN EL CONTROL DE <i>Botrytis cinerea</i> P. EN <i>Rosa sp.</i> VARIEDAD ORANGE CRUSH, CAYAMBE”
AUTOR (ES):	Sandra Verónica Campués Cholca
FECHA: DD/MM/AAAA	29-07/2021
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera Agropecuaria
ASESOR /DIRECTOR:	PhD. Lucía Vasquéz

2. CONSTANCIAS

El autor (es) manifiesta (n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 21 días del mes de abril de 2023

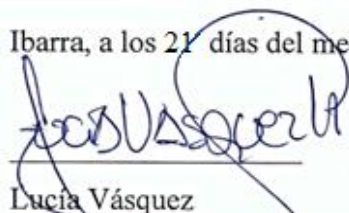
EL AUTOR:

Nombre: Sandra Verónica Campués Cholca

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Sandra Verónica Campués Cholca, bajo mi supervisión.

Ibarra, a los 21 días del mes de abril del 2023

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Lucía Vásquez', written over a horizontal line.

Lucía Vásquez

DIRECTOR DE TESIS

REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

Guía: FICAYA-UTN

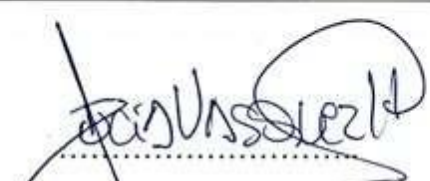
Fecha: Ibarra, a los 21 días del mes de abril del 2023

Nombres y Apellidos: Sandra Verónica Campués Cholca “EVALUACIÓN DE *Bacillus amyloliquefaciens* P. EN EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* P. EN *Rosa sp.* VARIEDAD ORANGE CRUSH, CAYAMBE” /Trabajo de titulación. Ingeniero Agropecuario.

Universidad Técnica del Norte. Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Ibarra, a los 25 días del mes de abril del 2023 77 páginas.

DIRECTOR (A):

El objetivo principal de la presente investigación fue: Evaluar *Bacillus amyloliquefaciens* P. en el control de *Botrytis cinerea* P. en *Rosa sp.* variedad Orange Crush, Cayambe. Entre los objetivos específicos se encuentran: Determinar la incidencia y severidad de *B. cinerea* después de aplicar los tratamientos en evaluación. Valorar la calidad de vida en florero de los tratamientos en estudio. Analizar los resultados económicos de la inclusión de *Bacillus amyloliquefaciens* P. versus el manejo tradicional de la finca.



Lucía del Rocío Vásquez Hernández, PhD
Directora de Trabajo de Grado



Sandra Verónica Campués Cholca

Autor

AGRADECIMIENTO

Me van a faltar páginas para agradecer a las personas que se han involucrado en la realización de este trabajo de titulación, sin embargo, merecen reconocimiento especial mi Madre Guadalupe Cholca y mi Padre Jaime Campués que con su esfuerzo y dedicación me ayudaron a culminar mi carrera universitaria y me dieron el apoyo suficiente para no decaer cuando todo parecía complicado e imposible.

De la misma manera, agradezco infinitamente a Hijo Jaime Campués y a mis Hermanas Patricia y Pamela Campués, que con sus palabras me hacían sentir orgulloso de lo que soy y de lo que les puedo enseñar. Ojalá algún día yo me convierta en su fuerza para que puedan seguir avanzando en su camino.

De igual forma, agradezco a mi Directora de Tesis, PhD. Lucía Vásquez que gracias a sus consejos y correcciones hoy puedo culminar este trabajo. A los Profesores MSc. Miguel Aragón que me han visto crecer como persona, y gracias a sus conocimientos hoy puedo sentirme dichosa y contenta por el alcance de uno de mis objetivos.

DEDICATORIA

Este documento está dedicado

Para mis padres Jaime y Guadalupe, por su comprensión y ayuda en momentos malos y menos malos. Me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio.

Gracias a mis padres soy quien soy, orgullosamente y con la cara muy en alto he concluido con mi mayor meta.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE TABLAS	i
ÍNDICE DE ANEXOS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 ANTECEDENTES	1
1.2 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.3 JUSTIFICACIÓN	4
1.4 OBJETIVOS	5
1.4.1 Objetivo general	5
1.4.2 Objetivos específicos	5
1.5 HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II	6
MARCO TEÓRICO	6
2.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO	6
2.1.1 Origen	6
2.1.2 Taxonomía	6
2.1.3 Morfología	7
2.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA	8
2.3 ENFERMEDADES DE LA ROSA	8
2.3.1 Botrytis (<i>Botrytis cinerea</i>)	8
2.3.1.1 Taxonomía	8
2.3.1.2 Ciclo biológico	9
2.3.1.3 Condiciones para su desarrollo	10
2.3.1.4 Control	10
2.4 COMO ACTÚAN LOS MICROORGANISMOS SOBRE <i>Botrytis cinerea</i>	11
2.5 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	11

2.5.1	Ciclo biológico	12
2.6	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CEPA R6-CDX	13
2.7	USO DE <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> P. EN EL CONTROL DE BOTRYTIS	14
2.8	MARCO LEGAL	17
2.8.1	Constitución del Ecuador	17
2.8.2	Código orgánico de ambiente	17
2.8.3	Codificación de la ley de desarrollo agrario	18
CAPÍTULO III		19
MARCO METODOLÓGICO		19
3.1	DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	19
3.1.1	Ubicación del área de estudio	19
3.2	MATERIALES	20
3.3	MÉTODOS	21
3.3.1	Factores en estudio	21
3.3.2	Tratamientos	22
3.3.3	Diseño experimental	23
3.3.4	Características del experimento	24
3.3.4.1.	Características de la Unidad Experimental	24
3.3.5	Análisis estadístico	24
3.3.6	Variables a evaluarse	24
3.3.6.1	Determinación de la incidencia y severidad de <i>Botrytis cinérea</i> después de aplicar los tratamientos en evaluación	24
3.3.7	Valoración de la calidad de vida en florero de los tratamientos en estudio	26
3.3.8	Análisis económico de la inclusión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> P. versus el manejo tradicional de la finca	27
3.4	MANEJO DEL EXPERIMENTO	27
3.4.1.	Aspersión de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> cepa R6 – CDX	27
3.4.2.	Monitoreo en campo	28
3.4.3.	Cámara húmeda	28
3.4.4.	Vida en florero	29
CAPÍTULO IV		32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		32

4.1. INCIDENCIA Y SEVERIDAD	32
4.1.1 Monitoreo campo.....	32
4.1.1.1 Incidencia.....	32
4.1.2.2 Severidad	33
4.1.2 Cámara húmeda	34
4.1.2.1 Incidencia.....	34
4.1.2.2 Severidad	35
4.2 VIDA EN FLORERO.....	37
4.2.2 Clasificación – Cosechas	37
4.2.3 Clasificación – Porcentaje de nacional.....	38
4.2.4 Vida en florero – Flores sanas	39
4.3 ANÁLISIS ECONÓMICO.....	42
4.3.1 Costo de producción	42
4.3.2 Productividad.....	43
CAPÍTULO V	46
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
5.1 CONCLUSIONES.....	46
5.2 RECOMENDACIONES	47
REFERENCIAS	48
ANEXOS.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Ciclo biológico de Botrytis</i>	9
Figura 2 <i>Ciclo biológico Bacillus</i>	13
Figura 3 <i>Ubicación finca</i>	19
Figura 4 <i>Distribución de los tratamientos y repeticiones en campo</i>	23
Figura 5 <i>Ubicación del experimento área – bloque</i>	23
Figura 6 <i>Porcentaje de incidencia</i>	25
Figura 7 <i>Porcentaje de severidad</i>	26
Figura 8 <i>Dosificación y aspersión de Bacillus amyloliquefaciens</i>	27
Figura 9 <i>Monitoreo campo</i>	28
Figura 10 <i>Proceso de cámara húmeda</i>	29
Figura 11 <i>Clasificación y bonchado</i>	29
Figura 12 <i>Empacado y sunchado</i>	30
Figura 13 <i>Ruptura de la cadena de frío</i>	30
Figura 14 <i>Destapado y cortado de tallos</i>	31
Figura 15 <i>Recepción y establecimiento de ramos en los floreros</i>	31
Figura 16 <i>Porcentaje de incidencia – Monitoreo Campo</i>	32
Figura 17 <i>Porcentaje de severidad- Monitoreo Campo</i>	33
Figura 18 <i>Porcentaje de incidencia – Cámara Húmeda</i>	35
Figura 19 <i>Porcentaje de severidad – Cámara húmeda</i>	36
Figura 20 <i>Largo de tallos</i>	38
Figura 22 <i>Tallos sin Botrytis</i>	40
Figura 23 <i>Proctividad por metro cuadrado</i>	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Taxonomía de la rosa</i>	7
Tabla 2 <i>Taxonomía de Botrytis cinerea</i>	9
Tabla 3 <i>Cuadro comparativo en el control de Botrytis cinérea mediante aplicación biológica</i>	16
Tabla 4 <i>Ubicación del experimento</i>	20
Tabla 5 <i>Materiales utilizados en el desarrollo de la investigación</i>	20
Tabla 6 <i>Equipos utilizados en el desarrollo de la investigación</i>	21
Tabla 7 <i>Insumos y reactivos para la investigación</i>	21
Tabla 8 <i>Tratamiento del experimento</i>	22
Tabla 9 <i>Características unidad experimental</i>	24
Tabla 10 <i>Análisis de varianza</i>	24
Tabla 11 <i>Guía de almacenamiento de flor</i>	30
Tabla 12 <i>ADEVA del porcentaje de incidencia – Cámara Húmeda</i>	34
Tabla 13 <i>ADEVA del porcentaje de severidad – Cámara Húmeda</i>	35
Tabla 14 <i>ADEVA vida en florero- largo de tallo</i>	37
Tabla 15 <i>Porcentaje de nacional</i>	39
Tabla 16 <i>ADEVA – flores sanas</i>	39

Tabla 17 <i>Costo de producción</i>	42
Tabla 18 <i>ADEVA productividad</i>	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 <i>Acta de aprobación tesis con finca Falconfarms de Ecuador Flores de la Montaña</i>	56
Anexo 2 <i>Monitoreo campo</i>	57
Anexo 3 <i>Botrytis cinérea</i>	57
Anexo 4 <i>Cámara húmeda</i>	57
Anexo 5 <i>Toma de datos cámara húmeda</i>	57
Anexo 6 <i>Cosecha de tratamientos</i>	57
Anexo 7 <i>Recepción en poscosecha</i>	57
Anexo 8 <i>Clasificación por tratamiento y repetición</i>	58
Anexo 9 <i>Boncheo por tratamiento y repetición</i>	58
Anexo 10 <i>Empacado de ramos enfulas</i>	58
Anexo 11 <i>Prueba de vuelo</i>	58
Anexo 12 <i>Vida en florero</i>	58
Anexo 13 <i>Toma de datos vida en florero</i>	58
Anexo 14 <i>Ficha técnica Vitanica RZ</i>	59

“EVALUACIÓN DE *Bacillus amyloliquefaciens* P. EN EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* P. EN *Rosa sp.* VARIEDAD ORANGE CRUSH, CAYAMBE”

Autor: Sandra Verónica Campués Cholca*; Lucía Vásquez; Miguel Aragón; Fernando Basantes

*Universidad Técnica del Norte

Correo: svcampuesc@utn.edu.ec

RESUMEN

Ecuador es el segundo exportador de flores, de los cuales 73% son rosas, evidenciando un crecimiento del 14.7%. *Botrytis cinérea*, una de las enfermedades con relevancia económica debido a la infección que causa a tallos, hojas, pétalos. El objetivo fue evaluar *Bacillus amyloliquefaciens* P. en el control de *Botrytis cinerea* P. en *Rosa sp.* variedad Orange Crush, Cayambe. Se utilizó un diseño completamente al azar con 4 tratamientos y 3 repeticiones, donde se evaluó la frecuencia de aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* P. versus el manejo químico. Los datos obtenidos muestran que el tratamiento A2 (aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* P. con frecuencia de aplicación cada 4 días) mostró diferencias significativas con relación al tratamiento A1 control químico, el cual se mantuvo con un % de incidencia y severidad entre el 0 y 2% en campo, mientras que el tratamiento A1 estuvo entre el 10 y 14%. En cámara húmeda el % de incidencia y severidad de A2 se estuvo entre en 0 y 25% a diferencia de A1 residió entre el 80 y 100%. De la misma manera en la vida en florero el número de flores buenas del tratamiento A2 obtuvo el 83% de flores buenas y del tratamiento A1 llegó al 63% evidenciando efectividad del uso de productos biológicos dentro de la rotación, sin embargo, el costo de control es mitigado por su retorno generado, por lo que se establece como mejor tratamiento en el control de botrytis al tratamiento A2, por tanto se recomienda ensayar con la alternancia de un producto químico, con la misma frecuencia de aplicación.

Palabras claves: bacteria, biocontrol, hongo, inhibir, *Rosa sp.*

ABSTRACT

Ecuador is the second exporter of flowers, of which 73% are roses, showing a growth of 14.7%. *Botrytis cinerea*, one of the diseases with economic relevance due to the infection that causes stems, leaves, petals. The objective was to evaluate *Bacillus amyloliquefaciens* P. in the control of *Botrytis cinerea* P. in *Rosa* sp. Orange Crush variety, Cayambe. A completely randomized design with 4 treatments and 3 repetitions was used, where the application frequency of *Bacillus amyloliquefaciens* P. was evaluated versus chemical management. The data obtained show that treatment A2 (application of *Bacillus amyloliquefaciens* P. with frequency of application every 4 days) showed significant differences in relation to treatment A1 chemical control, which was maintained with a % incidence and severity between 0 and 2. % in the field, while treatment A1 was between 10 and 14%. In the humid chamber, the % incidence and severity of A2 was between 0 and 25%, unlike A1, it resided between 80 and 100%. In the same way, in the vase life, the number of good flowers of the A2 treatment obtained 83% of good flowers and of the A1 treatment reached 63%, evidencing the effectiveness of the use of biological products within the rotation, however, the cost of control is mitigated by its generated return, which is why treatment A2 is established as the best treatment for botrytis control, therefore it is recommended to try alternating a chemical product, with the same frequency of application.

Key words: Bacterium, biocontrol, inhibit, mushroom, *Rosa* sp.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

Los principales productos de exportación del Ecuador son: banano (*Musa paradisiaca*), cacao (*Theobroma cacao*), café (*Coffea sp.*), camarón (*Caridea sp.*), atún (*Thunnus sp.*), y rosas (*Rosa sp.*), Ecuador ocupa el segundo puesto como exportador del mundo en cultivos de flor cortada, de los cuales 73% son rosas, lo que representa el 8.6% del PIB total (Agro Bayer Ecuador, 2020). Las rosas del Ecuador son consideradas las mejores del mundo por su calidad fisiológica y por su vida en florero prolongada; las áreas de mayor crecimiento en la producción de rosas es la provincia de Pichincha (Quito con un 25.28%, Pedro Moncayo con el 17.14% y Cayambe con un 17.03%) seguido de Cotopaxi con un 16.34% y finalmente Carchi con el 0.63%, debido a la suficiente luminosidad y suelo fértil; los cuales son factores muy importantes para el crecimiento y desarrollo de estas (Bravo y Flores, 2007).

Por otra parte, en el año 2009, las flores representaban el 25% del total de las exportaciones no tradicionales del Ecuador de todo el sector agrícola, las rosas son las que mayor peso en exportaciones poseen, es así como en el año 2012 se exportó 572 446 000 de dólares lo que representa el 74.7% de la exportación total de flores en nuestro país (Economía y Finanzas Internacionales, 2010). Las exportaciones de rosas han crecido en general de manera sostenida desde los años 90, con algunos descensos en los años 2009, 2010, 2014, 2016 y 2018, las exportaciones de los 10 últimos años muestran en Pichincha el 75%, Cotopaxi 19%, Carchi 2% Imbabura, 2% y Otras 2% crecimiento: el país pasó de exportar 105 530 t en el año 2008 a 123 357 t en el 2018; para el año 2019 las exportaciones de flores a los Estados Unidos alcanzaron los USD 396 millones, evidenciando un crecimiento del 14.7 %, es decir, se vendieron USD 51 millones más que en el 2018 (Expoflores, 2019).

Dentro de las principales limitantes para el desarrollo del cultivo de rosas, están las enfermedades como velloso (*Peronospera sparsa*), Botrytis (*Botrytis cinerea*), oidio (*Sphaerotheca pannosa*) y entre las plagas más representativas están trips (*Frankliniella occidentalis*), ácaros (*Tetranychus urticae*) y pulgón (*Macrosiphum rosae*) los cuales disminuyen los rendimientos y encarecen los costos de producción (Matute Calle, 2019).

Dada la importancia de este cultivo para la economía nacional, las empresas dedicadas al cultivo de rosa ciclo a ciclo procuran mejorar las técnicas de control de plagas y enfermedades introduciendo en sus rotaciones tanto productos químicos como biológicos, para el control de algunos patógenos en especial al hongo de botrytis se ha utilizado *Bacillus amyloliquefaciens* P., bacteria Gram positiva asociada a las plantas que estimula el crecimiento de las plantas y produce metabolitos secundarios que suprimen los patógenos de las plantas como en la uva (*Vitis vinífera*) la aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* reduce el porcentaje de pudrición en la cosecha del 15 % al 3% ,de la misma manera en arándano (*Vaccinium myrtillus*) la aplicación de *Bacillus*

amyloliquefaciens a la cosecha disminuye la afectación de botrytis de un 11% al 0% (UPL OpenAG, 2017), en tomate de riñón (*Solanum lycopersicum*) al almacenarlo a 2 °C con la aplicación del *B. amiloliquenfaciens* reduce al 100% la proliferación del hongo (Mari, Guizzadi, Brunelli, y Folchi, 2003), así también con la aplicación de *Bacillus subtilis* en frutos de limón (*Citrus limon*) y fresa (*Fragaria sp.*) inoculados artificialmente con *B. cinerea* demostró ser altamente efectivo en el control de enfermedades de pudrición, dando como resultado una disminución significativa de la incidencia de la enfermedad de hasta un 68,6 % y un 74,1 %, en limón y fresa, respectivamente (Postharvest Biology and Technology, 2017). Además, en la investigación realizada por Túqueres (2016) empleando *Trichoderma harzianum* para el control de Botrytis en rosas, mostró un control del 74.70 % en condiciones climáticas adecuadas para el desarrollo del hongo.

Algunas cepas de *Bacillus*, incluyendo *B. sutiles* y *B. amyloliquefaciens* P., producen una variedad de lipopéptidos cíclicos no sintetizados, incluyendo iturina, tensioína y fengycina, que muestran una potente actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos y pueden ser utilizados como agentes de control biológico para proteger las plantas (Chiou, 2003).

En el cultivo de fresa la zona de inhibición producida por *B. amyloliquefaciens* P. aumentó con el tiempo, un aumento que fue acompañado por la necrosis del micelio fúngico, luego se notó la supresión del crecimiento de *B. cinerea* con la zona de supresión aumentando a medida que aumentaba el crecimiento de *B. amyloliquefaciens* P., seguido por una marcada antibiosis y la competencia por el espacio y nutrientes, efecto que se manifestó por la reducción del crecimiento micelar del patógeno, finalmente, después de siete días, *B. amyloliquefaciens* P. detuvo el crecimiento de las colonias de *B. cinerea* (Hamdache, Ezziyyani, y Lamarti, 2018).

Los resultados en uva mostraron que *B. amyloliquefaciens* P. *B. cinerea* redujo la incidencia de la enfermedad, el diámetro de la lesión y el índice de decaimiento de las uvas poscosecha y mejoró las actividades de polifenol oxidasa, peroxidasa, quitosa y β -1,3-glucanase durante diferentes períodos de almacenamiento, además, se mejoró la resistencia oxidativa, la tasa de aclaramiento de radicales libres, la reducción de la potencia y la tasa de aclaramiento de aniones de superóxido después de la presencia de lesiones, también *B. amyloliquefaciens* P. mostró un efecto inhibitorio en el moho gris, pero resultó en la menor capacidad antioxidante en las uvas (Zhou, y otros, 2020).

1.2 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La pérdida de producción en la rosa por el hongo necrotrófito, *B. cinerea* es de un 40 % al no prevenirse y/o controlarse oportunamente, el moho gris ataca constantemente tanto en el campo como en el área de poscosecha y al ser detectado por los clientes genera quejas e inconvenientes, poniendo en peligro la actividad de exportación (Orellana, 2011). Finca Flores de la Montaña tiene aproximadamente un 75% de reclamos por Botrytis, especialmente en la variedad Orange Crush, para el 2018 hubo un 64.29%, en el 2019 fue del 84.29% y en 2020 estuvo en un 61.43%, es debido a que la susceptibilidad es muy elevada con relación al resto de variedades, generando pérdidas de productividad como económicas para la finca (Falconfarms de Colombia S. A., 2020).

Sin embargo, los sistemas productivos de rosas de corte para exportación poseen retos importantes, como es el control de enfermedades, principalmente *Botrytis cinerea*, siendo uno de los más relevantes debido a su persistencia y número de hospederos alternativos (Orellana, 2011). Los mercados internacionales son muy exigentes en el manejo ambientalmente sostenible de los cultivos, por lo que se ha generado presión para la implementación de estrategias de control biológico de enfermedades (Bautista, Barbosa, y Vélez, 2016). La infección necrótica de los pétalos de rosa por *B. cinerea* provoca el colapso y la muerte de estos tejidos tanto en la etapa de crecimiento como en la poscosecha, lo que genera graves pérdidas económicas (Datos Genómicos de BMC, 2018).

Además, la demanda nacional e internacional de rosas ha ocasionado un incremento favorable en la producción, por lo que el uso de fertilizantes, fungicidas e insecticidas se han vuelto indispensables para obtener tallos de calidad, generando de esta manera el alto consumo de agroquímicos, especialmente fungicidas (Flores, 2018). El consumo de agroquímicos en el Ecuador fue de 244.3 millones de dólares siendo consumido especialmente por el sector florícola, el cual es 26.9 millones de dólares anuales causando un consumo de alrededor de 1 280 toneladas de pesticidas químicos, siendo el 11% aportado por la floricultura en la importación de insumos sintéticos (Dávila, 2017). A nivel nacional el uso de fertilizantes químicos es del 51% en cultivos perennes y el 75% en cultivos transitorios, así también el manejo de agroquímicos para cultivos perennes es del 53% y en cultivos transitorios del 77% lo cual evidencia la resistencia de los patógenos frente al producto químico, bajando su efectividad como preventivo o curativo (INEC Instituto Nacional de Estadística y Censos, 2014).

1.3 JUSTIFICACIÓN

La presente investigación tiene gran importancia debido a que está basada en evaluar el control biológico de *Botrytis cinerea* en el cultivo de rosa, siendo esta una alternativa de prevención y/o control del patógeno, con lo que se evita el uso excesivo de agroquímicos nocivos para el ambiente en donde se desarrollan, con lo cual la frecuencia de aplicación de fungicidas se reduce.

En el Ecuador el control biológico en el cultivo de rosa se ha enfocado en reducir o controlar plagas y enfermedades los cuales son amigables con el medio ambiente y la salud humana, además, sus características y modos de acción ayudan a reducir menos riesgos que el uso de pesticidas (Viera Arroyo, 2020). Es así que para el control de botrytis se ha usado microorganismo conocidos que han mostrado potencial que controlan de manera biológica a *Botrytis cinerea* que son, *Trichoderma* y *Clonostachys* entre los hongos filamentosos (Harman et al., 1996; Latorre et al., 1997; Sutton et al., 1997; Cota et al., 2008), *Bacillus* y *Pseudomonas* de las bacterias (Walker et al., 2001; Jacobsen et al., 2004) y *Cryptococcus*, *Pichia* y *Candida* las levaduras (Xiang-hong et al., 2010; Lima et al., 1998; Nunes, et al., 2002; Masih et al., 2000; Karabulut et al., 2003; Garmendia et al., 2005). Las levaduras tienen la capacidad de colonizar las superficies de las plantas y las heridas por largos periodos bajo condiciones de muy baja humedad y antagonizan a los patógenos mediante la competencia por espacios y nutrientes (Schena et al., 2000; Mercier y Wilson 1994). En el caso de las bacterias como *Bacillus* y *Pseudomonas* su principal modo de acción parece ser la producción de antibióticos (Anjaiah 2004; Hang et al., 2005).

Por tanto, *Bacillus* sp. es una bacteria flagelada, que se mueven con facilidad, tiene alta capacidad de colonizar tejidos vegetales (alto poder antagonista), son capaces de producir esporas con alta viabilidad (muy resistentes), se adapta fácilmente al medio, es decir, es de fácil adaptación (UPL OpenAg, 2019), la cual presenta hasta un 95 % de inhibición del crecimiento de este hongo, generando el uso de estos desde hace varios años, dada la necesidad de reemplazar los programas de control químico por alternativas ambientalmente sostenibles (Universidad Nacional de Colombia, 2020).

Bacillus amyloliquefaciens P. es una bacteria Gram positiva con actividad preventiva frente enfermedades fúngicas, principalmente las de suelo (CompoExpert, 2020). La aplicación de *B. amyloliquefaciens* P. sobre la descomposición de las frutas, verduras y ornamentales causadas por microorganismos patógenos se ha convertido en un tema de alta importancia económica local y extranjera, sin embargo, hay pocos informes publicados sobre investigaciones sobre los efectos de *B. amyloliquefaciens* P. en la inhibición del crecimiento del moho gris en rosa (PMC National library of medicine, 2020).

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Evaluar *Bacillus amyloliquefaciens* P. en el control de *Botrytis cinerea* P. en *Rosa sp.* variedad Orange Crush, Cayambe.

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar la incidencia y severidad de *B. cinerea* después de aplicar los tratamientos en evaluación.
- Valorar la calidad de vida en florero de los tratamientos en estudio.
- Analizar los resultados económicos de la inclusión de *Bacillus amyloliquefaciens* P. versus el manejo tradicional de la finca.

1.5 HIPÓTESIS

Ho: *Bacillus amyloliquefaciens* P. cepa R6 – CDX no controla Botrytis (*Botrytis cinerea* P.) en el cultivo de rosa.

Hi: *Bacillus amyloliquefaciens* P. cepa R6 – CDX controla Botrytis (*Botrytis cinerea* P.) en el cultivo de rosa.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO

2.1.1 Origen

Las rosas tienen una historia milenaria desde las culturas babilónicas, sirias, egipcias, romanas y griegas quienes las consideraban un símbolo de belleza, se usaban como decoración en la isla de Creta en el siglo XVII antes de Cristo por sus pétalos y su fragancia siendo lo más valorado (Cerrillo, 2010). En la edad media la rosa solo la cultivaban en los monasterios, luego en el siglo XIX la popularidad de las rosas renace y se convierte en un símbolo de estatus, con esto en el mismo siglo un sin número de variedades empiezan a progresar debido a su importación de oriente (Flores hermosas, 2022).

El género rosa comprende numerosas especies, obtenidas mediante hibridación y selección, en el siglo XVIII, producto de los cruces entre los híbridos de China y los de Europa, especialmente *Rosa gigantea* y *R. chinensis* dio origen a una gran variedad de rosas, llamadas Híbridos de Té, caracterizadas por tener un botón grande y tallos largos, esta fue introducida en occidente en el año 1793 sirviendo de base a numerosos híbridos creados desde esta fecha (PortalFrutícola.com, 2016). En el año 1900 recién en Estados Unidos y Europa se empezó a producir rosas en forma comercial (Calvache, Yanchapaxi, y Lalama, 2017).

El género Rosa comprende más de 200 especies nativas del hemisferio norte, no se conoce la cantidad real debido al gran número de hibridaciones, pero se calcula que pueden existir unas 40 000 variedades. Actualmente, las variedades comerciales de rosa son híbridos de especies de rosas ya desaparecidas (López, 2017).

2.1.2 Taxonomía

Yong, (2004) Las rosas (*Rosa sp.*) son arbustos de ornamento cultivados principalmente por sus hermosas flores (Tabla 1).

Tabla 1
Taxonomía de la rosa

Reino	Vegetal
División	Espermatofitos
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledóneas
Orden	Rosales
Familia	Rosáceas
Tribu	Roseas
Género	<i>Rosa</i>
Especie	<i>Sp.</i>

Nota: Muestra clasificación taxonómica de la rosa (García, Polo, Valentina, Salas, & Avedaño, 2017)

2.1.3 Morfología

Los rosales son arbustivos, algunas trepadoras, con tallos generalmente espinosos que alcanzan de 2-5m de altura.

Los tallos del rosal se caracterizan por ser semileñosos, generalmente rectos, en ocasiones son rastreros, la textura es rugosa y escamosa, con notables formaciones epidérmicas de variadas formas, estípulas persistentes y bien desarrolladas (espinas).

Las hojas pueden ser perennes o caducas, pecioladas, compuestas e imparipinnadas, con folíolos brillantes (5-11 folíolos) de margen serrado generalmente de color verde oscuro. Por lo general, suelen presentar glándulas anexas sobre los márgenes que pueden ser odoríferas o no (Arzate Fernández, Bautista Puga, Piña Escutia, Reyes Díaz, & Vásquez García, 2014).

La flor debido a la gran cantidad de hibridaciones, existen flores de diversas formas y características diferentes. Por lo general, son hermafroditas, con simetría radial, perianto bien desarrollado y se disponen de forma solitaria o en inflorescencias en corimbo.

El fruto es conocido como cinorrodon. Se trata de un poliaquenio encerrado en un receptáculo carnoso, oval y de color rojizo en su madurez (InfoAgro, 2018).

La raíz es pivotante, vigorosa y profunda, en plantas procedentes de estacas el sistema radical del rosal se vuelve proporcionalmente pequeño (aproximadamente entre 5-10 % del peso total), por lo que su capacidad productiva es menor y al cabo de uno a dos años la calidad de la flor baja significativamente, en plantas injertadas, el sistema radicular es bien desarrollado, lo que permite a estas plantas lograr una mayor producción y calidad de las flores (Yong, 2004).

2.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA

Según cifras de Agrocalidad, (2019) se registraron 4 984 hectáreas de producción de flores. Dentro de las principales actividades, predomina el cultivo de rosas, con el 71 % del total, en el 2019 el rendimiento general por hectárea cultivada creció 5 % con respecto al 2018, pasando de USD 168 mil en el 2018 a USD 175 mil por hectárea cultivada en el 2019 (Expoflores, 2019). Hace más de 20 años se inició el sector florícola con fines de exportación, lo que ha representado un significativo crecimiento en la región Sierra, su producción se concentra en las provincias de: Pichincha, considerada como zona dedicada al cultivo con 66% del total de la producción, seguida de Cotopaxi con el 12.1%, Azuay 5.8%, Imbabura 5%, y el resto de provincias como Carchi, Chimborazo, Cañar, Loja con 6.6%, las exportaciones no tradicionales del país con US\$ 420' millones para el 2009, enfocado en sus grandes exportadores como Estados Unidos, Rusia, Holanda, Alemania, Canadá (Asitimbay, 2011).

Para el año 2009, las flores representaban el 25% del total de las exportaciones no tradicionales del Ecuador de todo el sector agrícola, las rosas son las que mayor peso en exportaciones poseen es así como en el año 2012 se exportó 572 446 000 de dólares lo que representa el 74.7% de la exportación total de flores en nuestro país (Economía y Finanzas Internacionales, 2010).

2.3 ENFERMEDADES DE LA ROSA

2.3.1 Botrytis (*Botrytis cinerea*)

Botrytis cinerea, (Anexo 3) conocida comúnmente como moho o podredumbre grises, es un hongo patógeno y necrotrófico que ataca a más de 200 especies vegetales, en especial a las que se cultivan en espacios cerrados como por ejemplo los invernaderos o las estancias interiores (Husqvarna, 2019). El género *Botrytis* constituye un grupo de hongos fitopatógenos ampliamente conocido, *B. cinerea*, capaz de infectar a frutos, flores, tallos, plántulas, hojas, bulbos, raíces y semillas, el ataque se produce sobre cultivos en el campo o en invernaderos, donde el hongo destruye rápidamente los tejidos y coloniza la planta; también provoca enfermedades en post-cosecha, comenzando con una infección latente en el cultivo y desarrollándose posteriormente durante la recolección, transporte y almacenamiento (Ornamentales Syngénta Colombia, 2018).

2.3.1.1 Taxonomía

En la tabla 2 se puede identificar la taxonomía de *Botrytis cinerea* empezando por nombre del género proviene del griego *botrys* que significa racimo de uvas. *cinerea* el adjetivo específico deriva latín cinéreo, en alusión al color cenicientos de las esporas acumuladas sobre el moho (José, 2020).

Tabla 2

Taxonomía de Botrytis cinerea

Reino	Fungí
Filo	Ascomycota
Clase	Leotiomycetes
Orden	Helotiales
Familia	Sclerotinicaeae
Género	Botryotinia

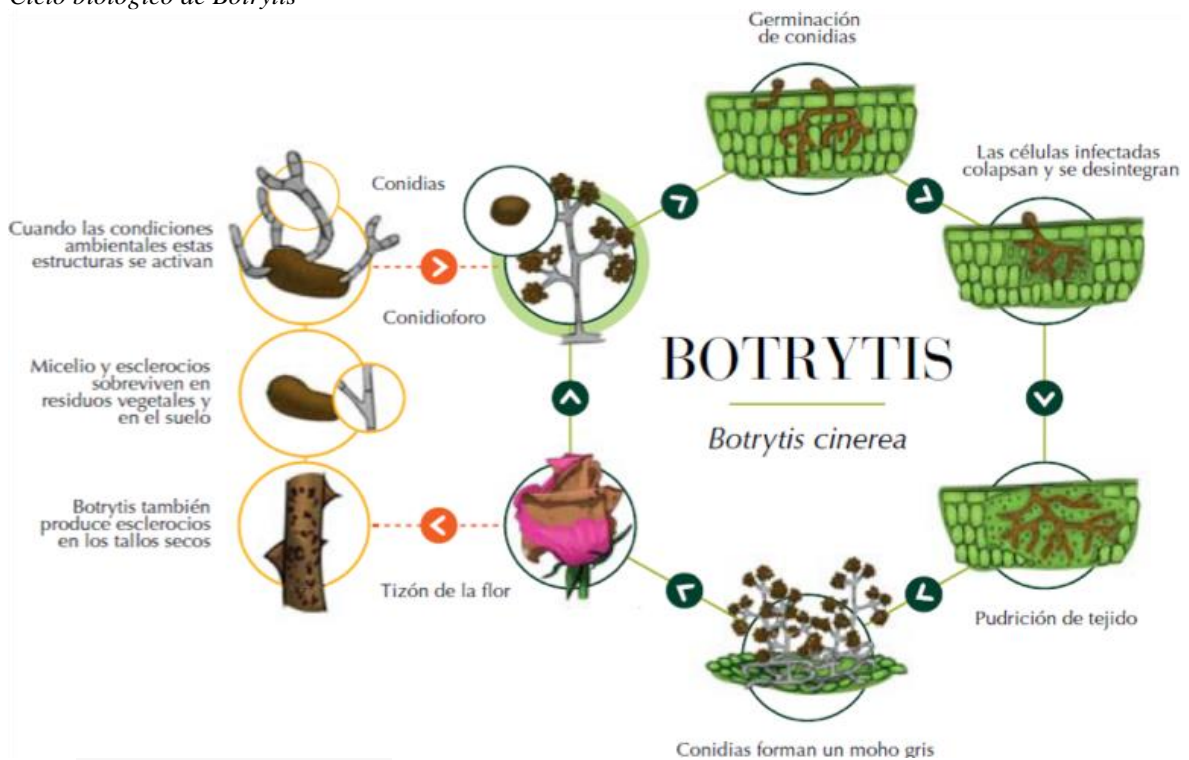
Nota: Clasificación taxonómica de Botrytis cinerea Según (Husqvarna, 2019)

2.3.1.2 Ciclo biológico

El desarrollo inicia en restos de plantas infectadas que no fueron eliminados, el micelio presente comienza a desarrollarse con el aumento de la humedad relativa, a plena luz del día, el micelio comienza a producir estructuras llamadas conidióforos, en el extremo de estas estructuras se forman unas esporas llamadas conidios que son transportadas a través del aire y que pueden entrar en contacto con las hojas y los tallos del cultivo (Canna, 2016) (Figura 1).

Figura 1

Ciclo biológico de Botrytis



Nota: Adaptación (Agrios, 2005)

Luego de adquirir las condiciones adecuadas tanto de temperatura y humedad relativa el conidio germina con lo cual inicia la penetración en el tejido vegetal en las

heridas o por actividad enzimática produciendo la muerte de las células que encuentran alrededor del hongo, proceso que da lugar a la aparición de la lesión, empezando así a la diseminación del patógeno por toda la planta u órgano (Metroflor-agro, 2020).

2.3.1.3 Condiciones para su desarrollo

Las condiciones adecuadas para que se desarrolle la enfermedad son las temperaturas entre los 15 – 18°C, con una humedad relativa superior al 90%, y agua libre; cuando empieza la época lluviosa, el hongo se disemina a gran escala con el viento, el agua (Hervario Virtual, 2020).

2.3.1.4 Control

Los procedimientos de control de *Botrytis* son complejos e inciertos en sus resultados, al menos en condiciones muy favorables para el hongo.

a) Prácticas culturales

Los aspectos culturales más relevantes para el control de botrytis según InfoAgro.com, (2016) son:

- Evitar siembras demasiado densas en condiciones de baja luminosidad.
- Manejar la aireación, calefacción y el riego del invernadero con el fin de reducir la combinación de humedad a saturación y condensaciones y temperaturas de 15-17° C.
- Hacer podas a ras del tallo para no dejar tocones que sirvan al desarrollo del hongo.
- Aplicación de una pasta fúngica en las heridas.
- Controlar los niveles de nitrógeno en el suelo, ya que niveles elevados favorecen el desarrollo de la enfermedad.

b) Control químico

Se basa en el empleo de fungicidas. El control de *Botrytis* es mediante aspersiones químicas aún no ha tenido el éxito deseado, especialmente en los climas húmedos y fríos (Promix, 2020).

Dentro de los fungicidas más usados según Metaflor-agro, (2017) están:

- Fungicidas de contacto: Captan (FRAC M4 – Ftalamidas) y Clorotalonil (FRAC M5- Cloronitrilos), Iprodione (FRAC 2 – Dicarboxamidas).
- Fungicidas traslaminares: Dodine (FRAC U12 – Guanidinas), Pyrimethanil (FRAC 9-Anilino Pyrimidinas), Fenhexamid (FRAC 17- Hydroxyanilidas) y Prochloraz (FRAC 3 – Imidazoles).
- Fungicidas sistémicos: Cyprodinil (FRAC 9-Anilino Pyrimidinas), Carboxin (FRAC 7- Oxathiin Carboxamidas), algunas Estrobilurinas (Kresoxim Methyl – FRAC 11 – Inhibidor externo de la quinona) y Boscalid (FRAC 7- Pyridine Carboxamidas).

c) Control biológico

Se han descrito diversos hongos (*Trichoderma spp.*, *Coniothyrium spp.*, *Gliocladium p.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.*, *Verticilium spp.*), bacterias (*Bacillus amyloliquefaciens* P.) y nemátodos como antagonistas de *B. cinerea*, citando a los primeros como los más importantes para su control (InfoAgro.com, 2016).

2.4 COMO ACTÚAN LOS MICROORGANISMOS SOBRE *Botrytis cinerea*

Existen especies de microorganismos que pueden ser sinérgicos, antagónicas, de competencia física y bioquímica, pueden actuar como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfatos, promotores del crecimiento vegetal, biocontroladores y especies patogénicas, normalmente, compiten por espacio y por nutrientes (Cano, 2011).

Los mecanismos que utiliza *Bacillus* para controlar *Botrytis* puede ser por contacto como, hiperparasitismo y predación, producción de compuestos de bajo peso molecular con efecto directo sobre el crecimiento del patógeno antibióticos (fenazinas, 2,4-diacetilfloroglucinol, lipopéptidos cíclicos), enzimas líticas (quitinasas, glucanasas, proteasas), productos de residuos no regulados (amoníaco, dióxido de carbono, cianuro de hidróxido) y mecanismos indirectos por competencia de espacio y nutrientes (consumo de lixiviados-exudados, producción de sideróforos, inducción a la respuesta sistémica en plantas mediante la producción de fitohormonas y patrones moleculares (Delgado, y otros, 2018).

2.5 *Bacillus amyloliquefaciens*

La bacteria es Gram positiva la cual vive junto a las raíces de las plantas y crece a medida que éstas lo hacen, alimentándose de los exudados radiculares que liberan; a cambio del alimento, protege y estimula a la planta, también induce una serie de mecanismos de resistencia a patógenos con actividad preventiva frente enfermedades fúngicas, principalmente las de suelo y factores abióticos adversos, que son activados de forma natural en la planta en presencia de la bacteria (Terralia, 2019).

Son promotores del crecimiento vegetal, microorganismos reconocidos como agentes de control biológico que forman una estructura de resistencia denominada endospora, que les permite sobrevivir en ambientes hostiles y estar en casi todos los agroecosistemas, se han reportado como una alternativa al uso de agroquímicos, los mecanismos de acción son producción de compuestos antimicrobianos, producción de hormonas, capacidad de colonización, formación de biopelículas y competencia por espacio y nutrientes; síntesis de enzimas líticas producción de compuestos orgánicos volátiles; e inducción de resistencia sistémica (Pedraza, López, y Vélez, 2018).

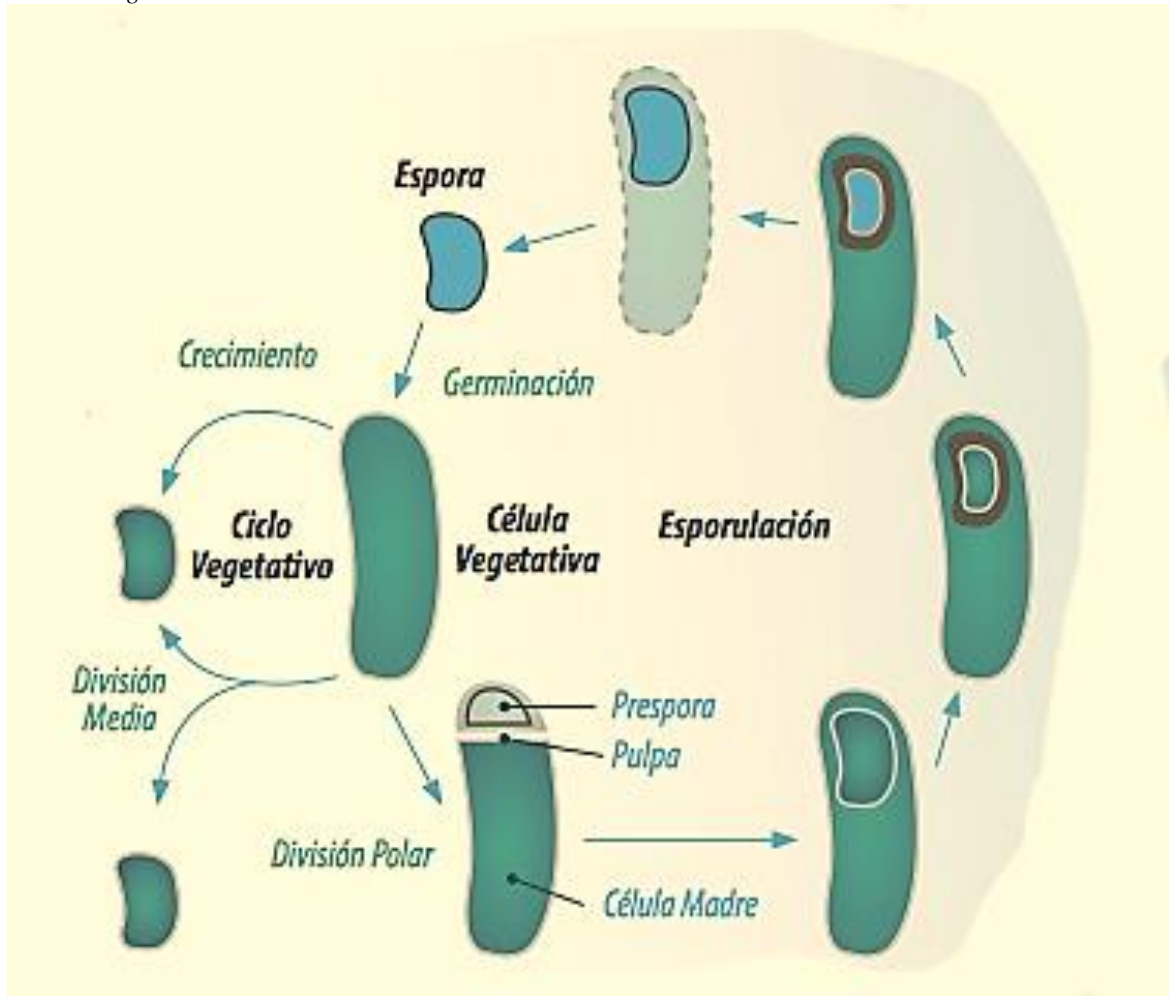
Los resultados de investigaciones en uva mostraron que *B. amyloliquefaciens* P. redujo la incidencia de la enfermedad mostrando el efecto inhibitorio del moho gris (Haidar, Fermaud, Garrido, Roudet, y Deschamps, 2016).

2.5.1 Ciclo biológico

El ciclo de vida de un *Bacillus*, está conformado por una fase de crecimiento vegetativo y una fase de esporulación (Figura 2).

Fase de crecimiento vegetativo, la bacteria crece de forma exponencial mediante fisión binaria, debido a que encuentra en un medio con las condiciones favorables para su desarrollo. **Fase de esporulación**, comienza como una estrategia de supervivencia en presencia de algún tipo de estrés (alta densidad de población, escasez de nutrientes, factores externos como salinidad, temperatura, pH, entre otros), la célula vegetativa inicia la formación de la endospora, lo cual implica la división celular asimétrica, dando lugar a la formación de dos compartimentos, célula madre y la inmersión de una preespora (Nagua Ortega , 2016). Posteriormente, la preespora es engullida, formando una célula dentro de la célula madre. Durante las etapas posteriores, la preespora es recubierta de capas protectoras (componentes proteicos, peptidoglicano y una pared que reside debajo de ésta, formada por células germinales), seguido de la deshidratación, y la maduración final de la preespora. Finalmente, la célula madre se lisa mediante muerte celular programada, liberando la endospora. La endospora puede permanecer viable en el ambiente hasta que las condiciones son favorables para iniciar sus procesos metabólicos y generar una célula vegetativa (Delgado, y otros, 2018).

Figura 2
Ciclo biológico *Bacillus*



Nota: Muestra el ciclo biológico de la bacteria ((Moal, Devillard, & Sidelmann Brinch, 2020))

Las principales vías por las cuales *Bacillus amyloliquefaciens* P. evitan el establecimiento y desarrollo de organismos fitopatógenos es a través de diferentes mecanismos, que incluyen: la excreción de antibióticos, sideróforos, enzimas líticas, toxinas e induciendo la resistencia sistémica de la planta (Delgado, y otros, 2018).

2.6 *Bacillus amyloliquefaciens* CEPA R6-CDX

Según CompoExpert, (2020)

Contiene

5 % p/p Nitrógeno (N) total

3.5 % Nitrógeno ureico

1.5 % Nitrógeno nítrico

5 % p/p Óxido de potasio (K₂O)

Bacillus amyloliquefaciens cepa R6-CDX® 1.6X10⁹ UFC/ml

30 % de *Ecklonia maxima*

4.4 mg/l de auxinas

0.01 mg/l de citoquininas

Características: abono líquido NK enriquecido con extracto de *Ecklonia maxima* y *Bacillus amyloliquefaciens* cepa R6-CDX®.

Indicaciones de seguridad

- Almacenar en un lugar protegido de la humedad, el calor y la luz con temperatura entre 5°C y 30°C.
- En su envase original puede ser almacenado por largo tiempo. Una vez abierto, el envase deberá ser cerrado adecuadamente y depositarse en lugar seco.
- Mantener fuera del alcance de los niños.
- No comer, beber ni fumar durante su utilización

Datos técnicos

Aspecto: Líquido

Color: Verde pH: 3,5

Densidad: 1,1 kg/L

2.7 USO DE *Bacillus amyloliquefaciens* P. EN EL CONTROL DE BOTRYTIS

En lirio (*Lilium candidum*) la aplicación de hidróxido de calcio (0,1%) más *Bacillus amyloliquefaciens* P., inhibió al 100% la germinación de *Botrytis*, bajando de esta manera la severidad en el lirio, al pulverizar *B. amyloliquefaciens* P. y mezclarlo con hidróxido de calcio al 0,025% más carbonato de sodio al 0,05% o nitrato de amonio al 0,025% disminuyó el moho gris en las hojas; así también al mezclar *B. amyloliquefaciens* P. con 0,025% de hidróxido de calcio y 0,05% de carbonato de sodio, o mezclado con 0,025% de hidróxido de calcio y 0,025% de nitrato de amonio inhibió el crecimiento moho gris en el lirio completamente, siendo fue consistentemente capaz de controlar el moho gris en lirio (Wu, 2003).

En fresa la cepa *B. amyloliquefaciens* P. inhibió fuertemente el crecimiento micelio de *B. cinerea* con una inhibición de 61.22% en el medio de agar jugo, es decir, cuanto mayor sea la concentración *B. amyloliquefaciens* P. mezclada en el medio, mayor será la tasa de inhibición en el crecimiento micelio de *B. cinerea*; la observación microscópica reveló que la estructura hifal del patógeno fungicida fue afectada seriamente por *B. amyloliquefaciens* P. ya que indicaba crecimiento anormal con la ramificación y la hinchazón excesivas. *B. amyloliquefaciens* P. mostró la capacidad prometedor de suprimir la enfermedad del moho gris en condiciones *in vivo* y disminuyó significativamente la gravedad de la enfermedad en flores y frutas, lo que llevó a un aumento en el valor de control de la enfermedad en comparación con fungicidas, también la detección de niveles más altos de la enzima defensa-relacionada, β -1,3-glucanase en las plantas de *B. amyloliquefaciens* P. indicó que la inducción de la resistencia por esta tensión estaba por lo menos implicada en parte en la supresión de la enfermedad (Maung, Baek, Choi, & Kim, 2020).

El efecto de nueve aislados bacterianos sobre la germinación de conidios de *B. cinerea*, se identificaron como *Bacillus amyloliquefaciens* P.; al evaluar la eficacia *Bacillus amyloliquefaciens* P., se realizaron confrontaciones tanto preventivas como simultáneas con los conidios de *B. cinerea*; los resultados mostraron que cinco aislados fueron más eficaces cuando se con inocularon simultáneamente con el patógeno; cuatro aislados fueron más eficaces cuando se inocularon previamente cuatro horas antes el patógeno; la cepa denominada B24, mostró una inhibición de (84.04%) en concentraciones muy bajas (3×10^3 UFC/ml) y la cepa RA9 fue la cepa menos eficaz (Hamdache A., 2018).

El tratamiento de tomates verdes de riñón con *Bacillus amyloliquefaciens* P. antes del almacenamiento a 10 °C mostró sólo actividad fungistática contra el moho gris; es decir, en frutos refrigerados, el antagonista bacteriano controló completamente el patógeno; al aplicar inmediatamente el *Bacillus amyloliquefaciens* P. después del almacenamiento a 2 °C, en las pruebas de fermentación en cuatro materiales de desecho industriales, *B. amyloliquefaciens* creció bien y mantuvo su actividad antagónica cuando se cultivó en dos de ellos (Elsevier Ltd., 1996).

Las aplicaciones protectoras y curativas *B. amyloliquefaciens* P. en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas artificialmente con botrytis resultaron en una reducción significativa de la incidencia y gravedad de la enfermedad, la eficacia de *B. amyloliquefaciens* P. en el control de moho gris se evaluó en un experimento de invernadero, aplicando alternado el Bacillus con fluopyram proporcionaron una alta eficacia de control y una frecuencia de resistencia (Hadjipetrou, Karaoglanidis, y Samaras, 2020).

Tabla 3*Cuadro comparativo en el control de Botrytis cinérea mediante aplicación biológica*

Cultivo	Nombre científico	Órgano de la planta	Ingrediente activo	Dosis	% Control de <i>Botrytis cinera</i>	Fuente bibliográfica
Uva	<i>Vitis vinifera</i>	Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1.5 -2.5 Kg/ha	15 a 3	UPL OpenAG, 2017
		Fruto	<i>Bacillus sp.</i>	2.5 Kg/ha	37 a 58	Calvo Garrido, Roudet, Aveline, Davidou, y Dupin, 2019
		Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	2.5 Kg/ha	50	Calvo Crespo, 2020
Arándanos	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1.5 -2.5 Kg/ha	11 a 0	UPL OpenAG, 2017
		Fruto en maduración	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		44.1 a 72.4	Rossi, Brischetto, y Fedele, 2020
		Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		100	Mari, Guizzadi, Brunelli, y Folchi, 2003
Tomate de riñón	<i>Solanum lycopersicum</i>	Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	250 UFC/ml	100	Masmoudi, y otros, 2017
Tomate de riñón verde		Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		100	Elsevier Ltd., 1996
Limón	<i>Citrus limon</i>	Fruto	<i>Bacillus subtilis</i>	6.60 mg L ⁻¹	68.7	Postharvest Biology and Technology, 2017
Fresa	<i>Fragaria sp</i>	Fruto	<i>Bacillus subtilis</i>	3.30 mg L ⁻¹	74.1	
		Flor y fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		62.22	Maung, Baek, Choi, & Kim, 2020
		Hoja, flor y fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		61.22	Chaw Ei, Woon Seon, Tae Gyu, y Kil Yong, 2021
Lirio	<i>Lilium candidum</i>	Flor	Hidróxido de calcio (0.1%) + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100 UFC/ml	100	Wu, 2003
			Hidróxido de calcio (0.025%) + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> + carbonato de calcio (0,05) o nitrato de amonio (0,025%)		100	Wu, 2003
Frejol	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		80	Hadjipetrou, Karaoglanidis, y Samaras, 2020
Lechuga	<i>Lactuca sativa L</i>	Hoja	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	2.5 Kg/ha	90	CERTIS agricultura sostenible y rentable, 2021
			<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> + fungicida		97	CERTIS agricultura sostenible y rentable, 2021
Cereza	<i>Prunus cerasus</i>	Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		75	Gotor Vila, y otros, 2017
Melocotón	<i>Prunus persica</i>	Fruto	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> + aceite de tomillo (<i>Thymus sp.</i>) y limoncillo (<i>Cymbopogon Citratus</i>)	97.2%	100	Arrebola, Sivakumar, Bacigalupo y Korsten, 2010

2.8 MARCO LEGAL

2.8.1 Constitución del Ecuador

En el capítulo 2 DERECHO sección segunda ambiente sano, en el artículo 14 de la constitución ecuatoriana establece el derecho a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, garantizando la sostenibilidad y el buen vivir de todos los ecuatorianos. Además, establece que es de importancia pública la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Así, como también el artículo 15 establece que el Estado promueve, tanto al sector público como al privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. Con esto se prohíbe el desarrollo, producción, tenencia, comercialización, importación, transporte, almacenamiento y uso de armas químicas, biológicas y nucleares, de contaminantes orgánicos persistentes altamente tóxicos, agroquímicos internacionalmente prohibidos, y las tecnologías y agentes biológicos experimentales nocivos y organismos genéticamente modificados perjudiciales para la salud humana o que atenten contra la soberanía alimentaria o los ecosistemas, así como la introducción de residuos nucleares y desechos tóxicos al territorio nacional.

En artículo 397 literal 2. Establece mecanismos efectivos de prevención y control de la contaminación ambiental, de recuperación de espacios naturales degradados y de manejo sustentable de los recursos naturales. También en el literal 3. Regular la producción, importación, distribución, uso y disposición final de materiales tóxicos y peligrosos para las personas o el ambiente (Decreto Legislativo, 2021).

2.8.2 Código orgánico de ambiente

El Art. 9.- PRINCIPIOS AMBIENTALES. En concordancia con lo establecido en la Constitución y en los instrumentos internacionales ratificados por el Estado, los principios ambientales que contiene este Código constituyen los fundamentos conceptuales para todas las decisiones y actividades públicas o privadas de las personas, comunas, comunidades, pueblos, nacionalidades y colectivos, en relación con la conservación, uso y manejo sostenible del ambiente. Los principios ambientales deberán ser reconocidos e incorporados en toda manifestación de la administración pública, así como en las providencias judiciales en el ámbito jurisdiccional. Estos principios son: Literal 2. Mejor tecnología disponible y mejores prácticas ambientales. El Estado deberá promover en los sectores público y privado, el desarrollo y uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto, que minimicen en todas las fases de una actividad productiva, los riesgos de daños sobre el ambiente, y los costos del tratamiento y disposición de sus desechos. Deberá también promover la implementación de mejores prácticas en el diseño, producción, intercambio y consumo sostenible de bienes y servicios, con el fin de evitar o reducir la contaminación y optimizar el uso del recurso natural (Código orgánico de ambiente, 2017).

2.8.3 Codificación de la ley de desarrollo agrario

Según Codificación de la ley de desarrollo agrario (2004) El Art. 3.- **POLÍTICAS AGRARIAS.** - El fomento, desarrollo y protección del sector agrario se efectuará mediante el establecimiento de las siguientes políticas: literal g) De minimizar los riesgos propios en los resultados de la actividad agraria, estableciendo como garantía para la equitativa estabilidad de ella, una política tendiente a procurar las condiciones necesarias para la vigencia de la libre competencia, a fin de que exista seguridad, recuperación de la inversión y una adecuada rentabilidad. También el Art. 21.- **POLÍTICA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA.** - La Política de Investigación Agropecuaria será determinada por el Ministerio de Agricultura y Ganadería y ejecutada por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, observando las siguientes prioridades: a) Productos alimenticios básicos de alto contenido nutritivo; b) Productos destinados a la exportación; c) Productos destinados a la sustitución de importaciones; y, d) Materia prima para la industria nacional.

Además, en el Art. 22.- **OBJETIVO.** - La investigación agropecuaria se orientará a elevar la productividad de los recursos humanos y naturales mediante la generación y adopción de tecnologías de fácil difusión y aplicación a fin de incrementar la producción de los renglones señalados en el artículo anterior. El Gobierno Nacional atenderá en forma prioritaria la asignación de recursos destinados a la investigación agropecuaria que realicen el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias y otras entidades del sector público. Siendo el Art. 23.- **APLICACIÓN DE RESULTADOS.** - Para la efectiva aplicación de los resultados de la investigación agropecuaria ésta se realizará preferentemente en proyectos integrados de desarrollo agropecuario, proyectos de reforma agraria y colonización, proyectos de desarrollo rural integral y de riego; en las agencias de servicios agropecuarios; y, en sectores atendidos por el Banco Nacional de Fomento con crédito de capacitación.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

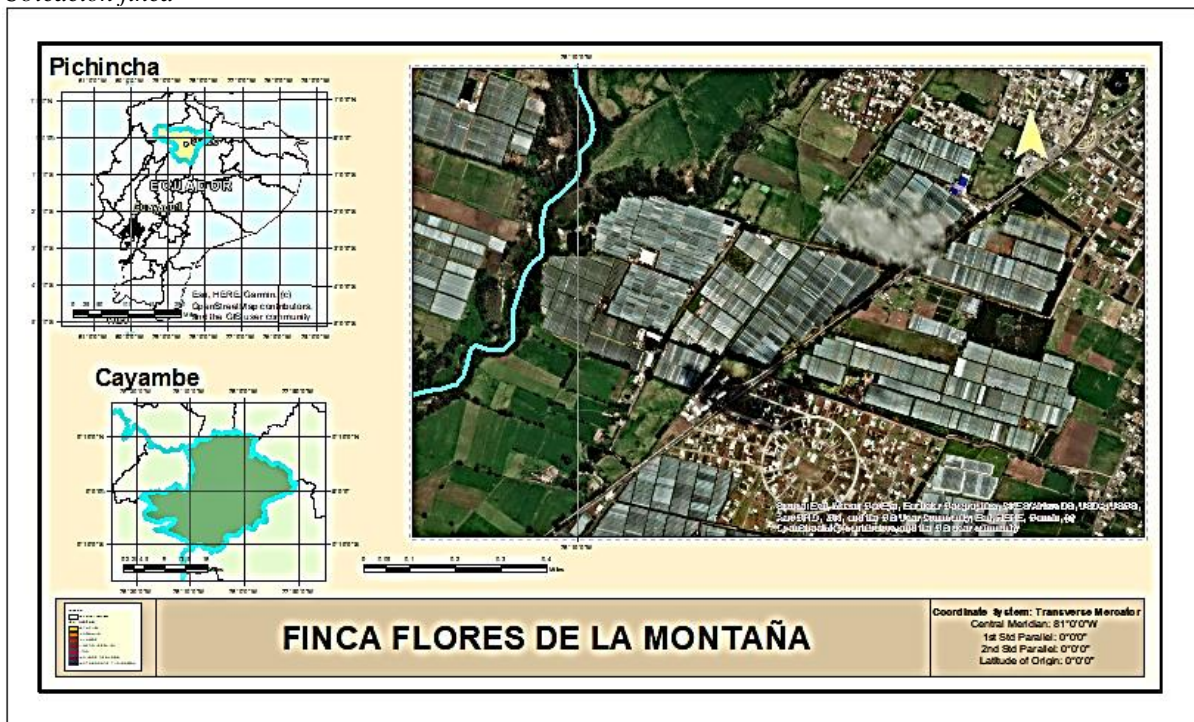
3.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La presente investigación se realizó (Anexo 1), en la Florícola Flores de la Montaña de la Compañía Falconfarms de Ecuador; tiene una extensión de 56 hectáreas, de las cuales 39 son productivas y las restantes son edificaciones, se dedica exclusivamente al cultivo de rosa de exportación para mercado americano. Está ubicada en el cantón Cayambe, parroquia Juan Montalvo, panamericana norte Km 1 ¹/₂ diagonal al parque Yaznan de la ciudad de Cayambe (Tabla 4).

3.1.1 Ubicación del área de estudio

El mapa muestra la ubicación exacta de la finca florícola Flores de la Montaña, donde se estableció la investigación (Figura 3).

Figura 3
Ubicación finca



En la tabla 4 se especifica la ubicación donde se estableció la investigación empezando la provincia hasta los metros sobre el nivel del mar al que se encuentra ubicada la finca donde se desarrolló todo el ensayo.

Tabla 4
Ubicación del experimento

Provincia	Pichincha
Cantón	Cayambe
Parroquia	Juan Montalvo
Sitio	Barrio 1 ^{ero} de Mayo
Nombre de la florícola	Falconfarms de Ecuador Flores de la Montaña
Altitud	2830 m.s.n.m.

3.2 MATERIALES

Dentro de los materiales, equipos e insumos que se usaron durante la investigación se detallan a continuación en las tablas 5, 6 y 7.

En la tabla 5 se detalla los materiales usados durante el experimento en campo para realizar la aspersión del Bacillus y la toma de datos durante los monitoreos diarios.

Tabla 5
Materiales utilizados en el desarrollo de la investigación

Materiales	
Material	Uso
Traje de aspersión	Equipo de protección para la aplicación
Pijama de aspersión	Uso interno antes del traje
Mascarilla 3M	Protección de boca y nariz
Casco visor	Proteger íntegramente la cabeza
Guantes PVC	Para la aplicación en campo
Guantes de Nitrilo	Mezcla del producto
Botas de caucho	Protección de los pies
Libreta de campo	Apuntes y datos de campo
Esferos	Escribir
Flash memory	Guardar información
Fundas	Recolección de muestras campo

En la tabla 6 se describen los equipos y el uso de cada uno, los cuales se utilizaron durante las aplicaciones del Bacillus durante ensayo.

Tabla 6
Equipos utilizados en el desarrollo de la investigación

Equipos	
Equipo	Uso
Bomba	Aplicación del producto
Tanque 200 L	Mezcla de producto
Manguera de aspersión	Aplicación del producto en campo
Lanza aguilón ID9 - ID8	Instrumento de aplicación
Probeta	Medición de líquidos
Balanza	Pesa del ácido cítrico

En la tabla 7 están descritos cada uno de los insumos utilizados para la correcta aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* P. con lo que se pudo determinar la frecuencia de aplicación más asertiva para el control de botrytis.

Tabla 7
Insumos y reactivos para la investigación

Insumos	
Insumo	Uso
Agua	Vehículo para mezcla
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> P. Cepa R6 – CDX (1.6X10 ⁹ UFC/ml)	Bacteria para el control de botrytis
Ácido cítrico	Regular el pH de la solución

3.3 MÉTODOS

Es una investigación experimental en la cual se detalla el diseño experimental que se usó para la investigación en relación con los objetivos planteados.

3.3.1 Factores en estudio

En la presente investigación se estudió la frecuencia de aplicación del biofungicida en el control de Botrytis en el cultivo de rosa. Dentro de los parámetros a evaluar fueron las frecuencias de aplicación con una dosis de 3cc/litro de *Bacillus amyloliquefaciens* P., de acuerdo con la recomendación del producto; la dosis fue fija para todos los tratamientos durante todo el proceso de experimentación.

Factor A: Frecuencia de aplicación

A1: Testigo (manejo convencional de la finca)¹

A2: 4 días

A3: 6 días

A4: 8 días

¹ Aplicación de fungicidas químicos para el control de *Botrytis cinerea* (Gestiones & Representaciones Chía, 2020)

3.3.2 Tratamientos

De las combinaciones de los factores se obtuvo 12 tratamientos entre la frecuencia de aplicación y su repetición (Tabla 8).

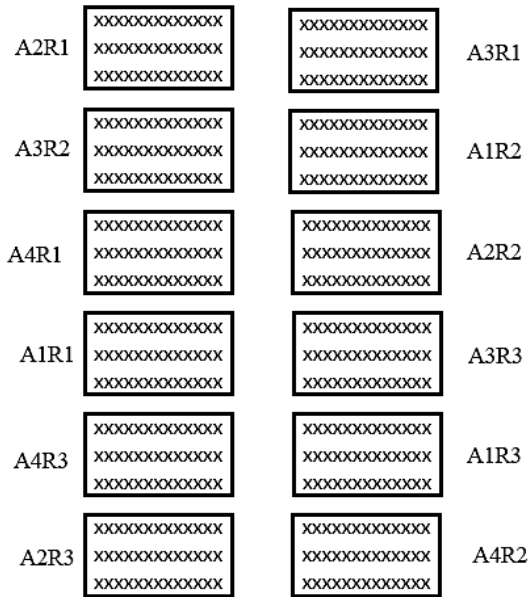
Tabla 8
Tratamiento del experimento

Tratamientos	Frecuencia de aplicación	Repetición	Combinaciones
1	A1	R1	A1R1
2	A1	R2	A1R2
3	A1	R3	A1R3
4	A2	R1	A2R1
5	A2	R2	A2R2
6	A2	R3	A2R3
7	A3	R1	A3R1
8	A3	R2	A3R2
9	A3	R3	A3R3
10	A4	R1	A4R1
11	A4	R2	A4R2
12	A4	R3	A4R3

En la figura 4 se puede observar cómo se distribuyó cada tratamiento con sus respectivas repeticiones en el campo, cada repetición estuvo formada por 3 camas de la variedad Orange Crush.

Figura 4

Distribución de los tratamientos y repeticiones en campo



En la figura 5 se puede identificar que el ensayo estuvo ubicado en el área de Flores 4, en el bloque 47 los cuales son propiedad de la finca Falconfarms de Ecuador Flores de la Montaña.

Figura 5

Ubicación del experimento área – bloque



Nota: Ubicación de áreas e invernaderos finca (Falconfarms de Ecuador S. A., 2020)

3.3.3 Diseño experimental

El objetivo fundamental de los diseños experimentales radica en el determinar si existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos del experimento, en este caso se evaluó las frecuencias de aplicación *Bacillus amyloliquefaciens* P. cepa R6 – CDX en el control de Botrytis, se manejó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con tres

repeticiones con el cual se determinó la influencia del biofungicida sobre el hongo en la rosa (Castillo, Rodríguez, Wong, y Villalpando, 2007).

3.3.4 Características del experimento

Detalle de las características del experimento.

- Repeticiones: 3
- Frecuencias: 4
- Total, de unidades experimentales: 12
- Área total del experimento: 2 304.60 m²

3.3.4.1. Características de la Unidad Experimental

Cada unidad experimental constó de 3 camas para su experimentación, la cama tiene 64 m², es decir, que cada unidad experimental tuvo 192 m², siendo en su totalidad de 2 304.60 m² todo el lote de la variedad (Tabla 9).

Tabla 9
Características unidad experimental

Número camas	Cama m ²	Unidad experimental m ²	Total, lote m ²	Número de plantas /unidad experimental	Número de plantas totales	Densidad de siembra Plantas/m ²
3	64	192	2 304.60	1 278	14 916	6.5

3.3.5 Análisis estadístico

Para analizar los datos cuantitativos obtenidos de forma experimental se procedió a utilizar un Análisis de varianza (ADEVA) con prueba de medidas LSD Fisher ($\alpha=0.05$) (Tabla 10).

Tabla 10
Análisis de varianza

Fuentes de variación	Total	(FA) Frecuencia de aplicación	Error experimental
GL	11	3	8

3.3.6 Variables a evaluarse

Detalle de variables de acuerdo con el objetivo planteado.

3.3.6.1 Determinación de la incidencia y severidad de *Botrytis cinérea* después de aplicar los tratamientos en evaluación.

A primera hora del día, se observó 20 flores en punto de corte, por cada tratamiento. Se monitoreo la presencia de pecas en la flor (la flor positiva es la que

presento pecas o lesiones). La información obtenida fue apuntada en el formato donde se consolidó el % de incidencia y severidad/tratamiento/repetición. La inspección se realizó todos días desde el inicio de las aplicaciones hasta finalizar las mismas, procedimiento que se llevó durante los tres meses de evaluación del proyecto (Anexo 2).

En cámara húmeda (Anexo 4 y 5) se estableció 5 flores en punto de corte por cada tratamiento donde se evaluó el control o la presencia del patógeno cada 8 días, durante todo el tratamiento, corroborando de esta manera el % de incidencia y severidad/tratamiento/repetición (Gestiones & Representaciones CHÍA, 2019).

3.3.6.1.1 Incidencia

Es el porcentaje de individuos enfermos con relación al total de estos, pueden ser plantas, hojas, flores, folíolos, frutos, espigas, evaluando a cada uno la presencia o ausencia de la enfermedad. (Lavilla & Ivancovich, 2016) (Figura 6).

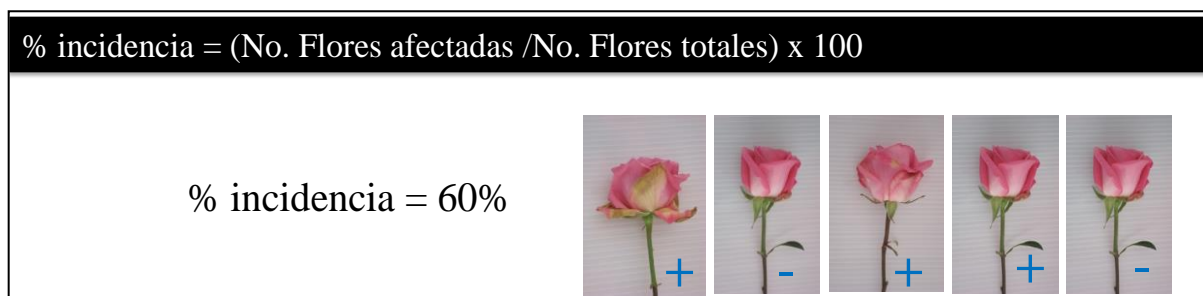
La fórmula que se utilizó para el cálculo de la incidencia es:

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ flores afectadas}}{\text{N}^\circ \text{ flores totales}} \times 100$$

Fuente: Gestiones & Representaciones CHÍA, (2019)

Es así como en la figura 6 se observa un ejemplo práctico de cómo se calcula el % de incidencia aplicando la fórmula antes descrita. De 5 flores 3 fueron afectadas y solo 2 están sanas, al aplicar la fórmula se tuvo el 60 % de incidencia de la enfermedad.

Figura 6
Porcentaje de incidencia



Nota: Muestra el cálculo de la incidencia en la rosa (Gestiones & Representaciones CHÍA, 2019)

3.3.6.1.2 Severidad

Es el porcentaje de un órgano enfermo, pudiendo ser hojas, tallos, raíces, flores o frutos afectado por la enfermedad (Lavilla & Ivancovich, 2016) (Figura 6).

G1.- Grado uno, cuando presenta la pústula.

G2.- Grado dos, tejido blando.

G3.- Grado tres, presenta esporulación.

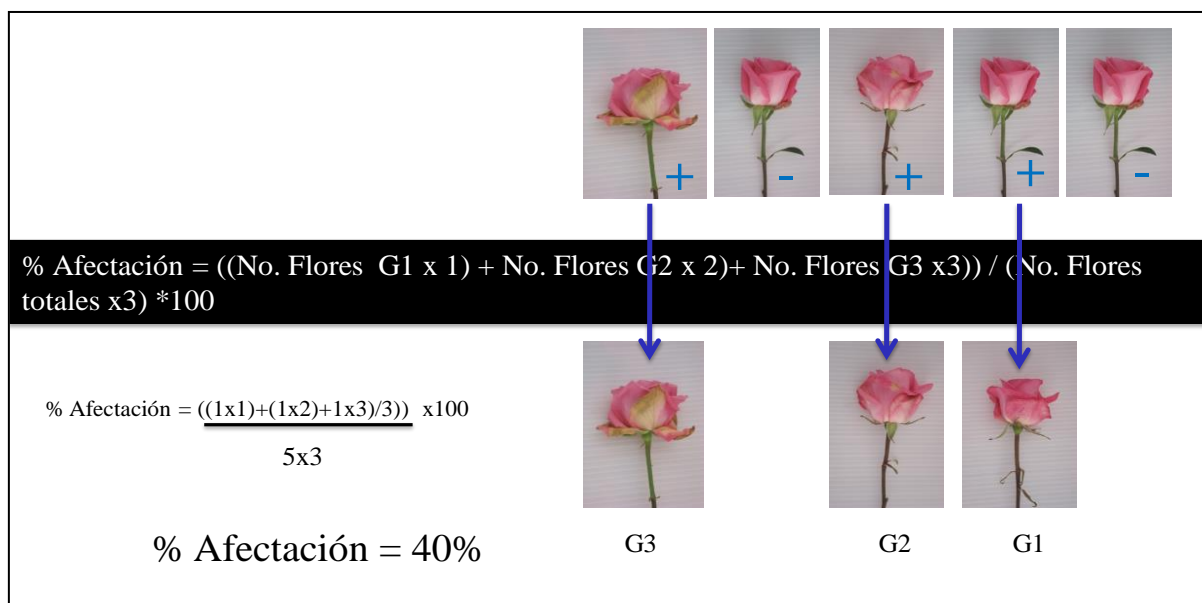
Para el cálculo de la severidad se aplicó la fórmula: % severidad es igual al número de flores en grado uno multiplicado por uno más el número de flores en grado dos multiplicado por dos y más el número de flores en grado tres multiplicados por tres, dividido para en número total de flores multiplicado por tres y el resultado de la operación anterior multiplicar por cien.

$$\% \text{ Severidad} = \frac{((N^{\circ} \text{ flores G1} * 1) + (N^{\circ} \text{ flores G2} * 2) + (N^{\circ} \text{ flores G3} * 3))}{(N^{\circ} \text{ flores totales} * 3)} * 100$$

Gestiones & Representaciones CHÍA, (2019)

Es así, que en la figura 7 se muestra como identificar una flor en grado uno, en grado dos y en grado 3, además, se observa que al aplicar la formula antes descrita el porcentaje de severidad es del 40%.

Figura 7
Porcentaje de severidad



Nota: muestra el porcentaje de severidad de la enfermedad (Gestiones & Representaciones CHÍA, 2019)

3.3.7 Valoración de la calidad de vida en florero de los tratamientos en estudio

De cada tratamiento se tomaron 12 flores a las cuales estuvieron en monitoreo durante 15 días, se pudo analizar apertura, daños de enfermedades (Botrytis), decoloración, deformidad, deshidratación, caída de pétalos, pedúnculo caído, necrosis en bordes de pétalos, senescencia y amarillamiento de follaje. El análisis de la vida en florero fue diario, los datos obtenidos fueron registrados en un formato de acuerdo con su grado de apertura y día de la observación realizada.

La vida en florero se realizó 3 evaluaciones durante el periodo de ensayo, es decir, la primera al mes de la inoculación, la segunda en la fase intermedia de cada tratamiento y la tercera al finalizar las aplicaciones del producto en el campo.

3.3.8 Análisis económico de la inclusión de *Bacillus amyloliquefaciens* P. versus el manejo tradicional de la finca

Para el análisis económico se tomó en cuenta todos los rubros relacionados a la inversión que realiza la finca en el control de Botrytis de manera convencional y las pérdidas que genera la misma, de igual manera se analizó los costos que generó la utilización de *Bacillus amyloliquefaciens* P. cepa R6 – CDX en el control de Botrytis.

Se evaluó la productividad exportable generada de la variedad después de la aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* P. cepa R6 – CDX de cada tratamiento.

3.4 MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.4.1. Aspersión de *Bacillus amyloliquefaciens* cepa R6 – CDX

La dosis del *Bacillus* a la que se aplicó es de 3cc/l según la recomendación del producto (CompoExpert, 2020). El volumen por camas fue de 6 litros/cama, aplicación para Botrytis botón (Gestiones & Representaciones CHÍA, 2019). Todos los tratamientos durante el primer mes recibieron aplicaciones del *Bacillus*, cada 8 días para inocular el producto. Luego las aplicaciones fueron de acuerdo con la frecuencia de cada tratamiento (A2: 4 días, A3: 6 días, A4: 8 días) (Figura 8).

Figura 8

Dosificación y aspersión de Bacillus amyloliquefaciens



Tanto para la mezcla como para realizar la aspersión el operario estuvo con los equipos de protección personal. Además, se verificó temperatura (menor a 28°C) y/o humedad relativa (inferior al 40%) dentro del bloque para la correcta asimilación del producto y evitar estrés en la planta. La mezcla se inició realizando una premezcla del producto para garantizar la correcta disolución, luego se añadió al tanque de solución

madre, seguidamente agregó el adherente a 0.3cc/l. y finalmente se reguló el pH a 5 para su aplicación.

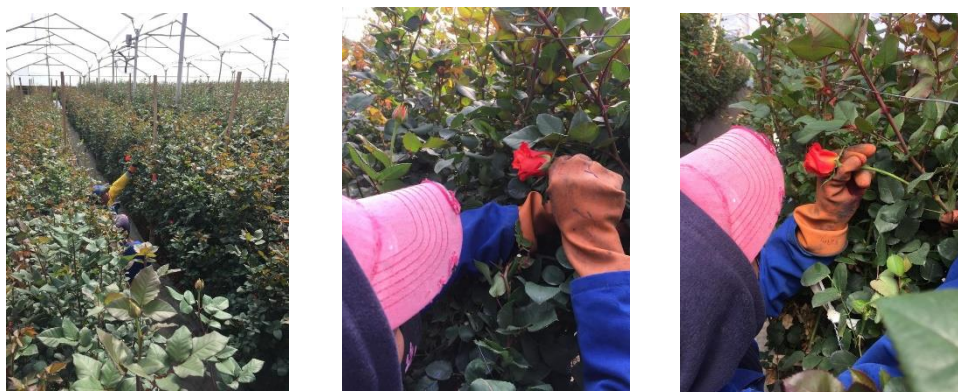
Para garantizar el volumen por cama se realizó el aforo de discos y el tiempo por cama, también el aseguramiento del cubrimiento del producto sobre la planta se realizó con la ubicación de papel hidrosensible (Gestiones & Representaciones Chía, 2020).

3.4.2. Monitoreo en campo

Para iniciar el monitoreo (Anexo 2) en campo, primero se llenaban los datos informativos como número de bloque, semana y fecha; luego se procedía a ubicarse en el primer camino (semana impar) o en el segundo camino (semana par) de la cama, donde se analizaron 20 flores en punto de corte (caracol definido y desprendimiento de los pétalos guardas), en los cuales se observó la presencia o no de pústulas (BTG1), tejido blando (BTG2) o esporulación del hongo (BTG3), luego se registró en el formato establecido y finalmente se calculó el % de incidencia y severidad del patógeno (Gestiones & Representaciones Chía, 2019) (Figura 9).

Figura 9

Monitoreo campo



3.4.3. Cámara húmeda

Se establecieron 5 flores en punto de corte (El punto de corte de la rosa esta dado cuando el caracol está definido mostrando centro, la coloración de los pétalos son más brillantes y llamativos, el patrón es en forma de una copa), sin follaje, ubicadas en tinas con agua (10 litros) individuales por tratamiento, separadas entre flor y flor a 2 cm. a temperatura ambiente. Los datos obtenidos fueron registrados en el formato establecido de acuerdo con el grado (G1, G2, G3), de afectación del hongo con lo cual se calculó el porcentaje de incidencia y severidad. El monitoreo se realizó todos los martes de cada semana. Dichas flores estuvieron en análisis durante 8 días (Gestiones & Representaciones CHÍA, 2019) (Figura 10).

Figura 10

Proceso de cámara húmeda



3.4.4. Vida en florero

Dentro de los pasos a seguir para analizar la vida en florero fueron los siguientes:

Elaboración de ramos: Se bonchó ramos de 12 tallos, los mismos que se cosecharon de cada tratamiento en evaluación (Figura 11).

Figura 11

Clasificación y bonchado



comercial: Se empacaron los ramos de acuerdo al empaque comercial del producto. La caja siguió exactamente el proceso comercial hasta el momento de despacho con la cadena de frío respectiva (2 °C cuarto de despacho) (Figura 12).

Figura 12

Empacado y sunchado



Inicio simulación de viaje: Empezó el proceso de simulación teniendo como referencia los tiempos de almacenamiento en la tabla 11 (Anexo 11).

Tabla 11

Guía de almacenamiento de flor

Guía de Almacenamiento		
8 días	12 días	16 días
Rosas		
Rosa Spray		

Nota: Variedad de productos (Gestiones & Representaciones Chía, 2020)

Para simular la ruptura de la cadena de frío en las zonas de embarque, el segundo día del viaje simulado se sacó las cajas a temperatura ambiente por 8 horas, luego se las volvió a los cuartos fríos hasta completar el tiempo de almacenamiento establecido. Una vez se completó el tiempo, se empezó con el procedimiento de evaluación en florero (Figura 13).

Figura 13

Ruptura de la cadena de frío



Recepción para florero:

- Se destapó la caja y cumpla con las
- Luego se procedió base retiro del caucho y
- Después se eliminó el follaje innecesario de los tallos para que no quede por debajo del agua.



se revisó el material que especificaciones del ensayo. con el cortado los tallos en la aproximadamente 2.5 cm y el capuchón.

Figura 14

Destapado y cortado de tallos



Floreros: Se llenó cada florero con agua (2 litros) y se añadió el sobre de perseverante de 5 g/l, luego se marcó cada florero con la etiqueta donde conste el nombre de la variedad, la fecha, tratamiento y finalmente se introdujeron los tallos en los floreros y se los ubicó en la mesa de acuerdo a cada tratamiento. Cuando el nivel de agua disminuía con el pasar los días de evaluación se agregó solo agua (Gestiones & Representaciones Chía, 2020) (Anexo 12 y 13) (Figura 15).

Figura 15

Recepción y establecimiento de ramos en los floreros



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presente investigación se realizó en la finca Falconfarms de Ecuador Flores de la Montaña, donde se evaluó el control de *Botrytis cinera* en el cultivo de *Rosa sp.* Variedad Orange Crush con frecuencia de aplicación de 4, 6, y 8 días de *Bacillus amyloliquefaciens* P. a una dosis de 3cc/L, donde se obtuvo los siguientes resultados.

4.1. INCIDENCIA Y SEVERIDAD

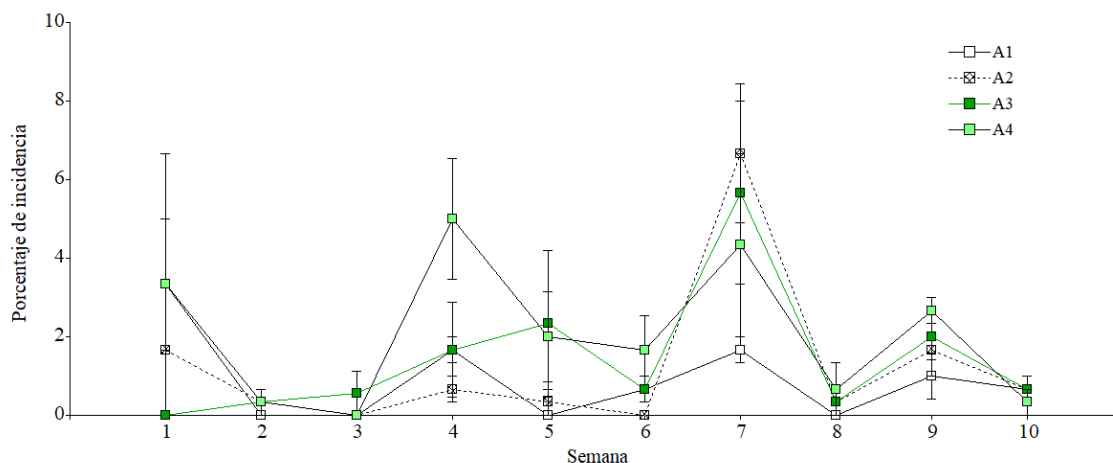
4.1.1 Monitoreo campo

4.1.1.1 Incidencia

Se pudo evidenciar que al inicio del ensayo los tratamientos A1 (testigo aplicación química) y A4 (8 días) tienen una incidencia del 3% y el tratamiento A3 (6 días) estuvo en el 0%; en la semana 4 se puede observar que el tratamiento A4 fue alto con una incidencia del 5% en relación al tratamiento A2 (4 días) el cual tuvo un 1% lo que genera una variación del 3% entre los tratamientos; de la misma manera en la semana 7 los tratamientos con aplicación biológica subieron, el tratamiento A2 con un 7% seguido del A3 con 6% y A4 con el 5% y A1 con el 1%, mostrando una diferencia del 6% entre la aplicación química y biológica (Figura 16).

Figura 16

Porcentaje de incidencia – Monitoreo Campo



En el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) al usar productos químicos en el control de botrytis se obtuvo el 14% afectación; mientras que al realizar el control del patógeno con *Bacillus amyloliquefaciens* se observó una disminución al 10% más aun, al realizar la combinación un producto fungicida más *Bacillus amyloliquefaciens* hubo una reducción al 8% de lechugas afectadas (CERTIS agricultura sostenible y rentable, 2021).

De la misma manera, en fresa (*Fragaria sp.*) al aplicar *Bacillus amyloliquefaciens* mostró un 61.22% de inhibición mostrando valores significativos en el control de botrytis,

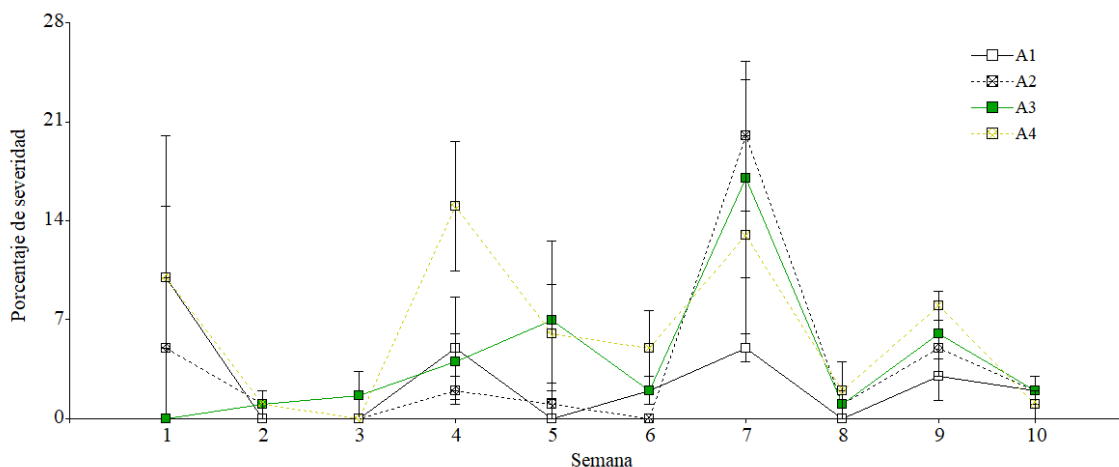
mejorando la calidad de hojas, flores y frutos de la fresa, lo que mejora la productividad del cultivo (Chaw Ei, Woon Seon, Tae Gyu, y Kil Yong, 2021).

En el cultivo de rosa específicamente en la variedad orange crush se pudo evidenciar una disminución significativa en el porcentaje de incidencia, en los tratamientos A2 y A3 los cuales mantuvieron porcentajes bajos entre el 0 y 2% en relación a aplicación química A1 (testigo), siendo favorable debido ya que está por debajo del umbral de daño económico (3%), establecido para la finca florícola. *Bacillus amyloliquefaciens* al ser un producto biológico podrá ser una opción propicia para ingresar a la rotación de productos como herramienta para prevenir y/o controlar botrytis.

4.1.2.2 Severidad

La severidad al iniciar la investigación los tratamientos A1 y A4 presentaron entre el 10% aproximadamente, A2 estuvo en el 6 % y A3 empezó con el 0%; en la semana 4 el tratamiento A4 estuvo en el 14% mientras que los tratamientos A1, A2, A3 están entre el 1 y el 5% estableciendo una diferencia amplia del 13% entre el tratamiento A4 y A2. De la misma manera en la semana 7 se evidencia que los tratamientos biológicos tuvieron una severidad alta así el tratamiento A2 llegó al 21%, seguido de A3 en el 19% y A4 en el 14% mientras que el tratamiento A1 se mantuvo bajo en el 5% aproximadamente, por lo que las aplicaciones químicas se mantuvieron bajas durante toda la investigación (Figura 17).

Figura 17
Porcentaje de severidad- Monitoreo Campo



Así también, en un ensayo de uva (*Vitis vinífera*) muestra que, se evaluó por 2 años la aplicación del Bacillus, donde se pudo ver que en el primer año disminuyó la incidencia del patógeno en un 37% con respecto al testigo, en el segundo año mejoró la incidencia al 58% lo cual muestra que al realizar aplicaciones a largo plazo se puede reducir el grado de afectación del patógeno, permitiendo de esta manera mejorar la calidad del producto final (Calvo Garrido, Roudet, Aveline, Davidou, y Dupin, 2019).

En la rosa se pudo probar que la severidad en los tratamientos biológicos se mantuvo entre 0 y 6 % lo cual fue beneficioso debido a que se puede evidenciar que el *Bacillus* baja en gran escala la severidad del patógeno, debido a que la bacteria recubre a la planta con la irutina A la cual al acumularse rompe el ciclo de la botrytis generando inhibición de esta, permitiendo de esta manera más días abiertos para rotación de productos para botrytis.

De la misma manera se evidencia en el cultivo de uva el control de botrytis con *Bacillus amyloliquefaciens* con lo que obtuvo una reducción del 50 % en la incidencia y severidad de *B. cinérea*, siendo el principal modo de antibiosis, la producción de lipopéptidos como la iturina A, la responsable de las inhibiciones del hongo.(Calvo Crespo, 2020).

4.1.2 Cámara húmeda

4.1.2.1 Incidencia

Del análisis estadístico porcentaje de incidencia muestran que existe interacción entre los factores días y tratamientos (F= 2.08; Gl= 36, 102; p= <0.0023) (Tabla 12).

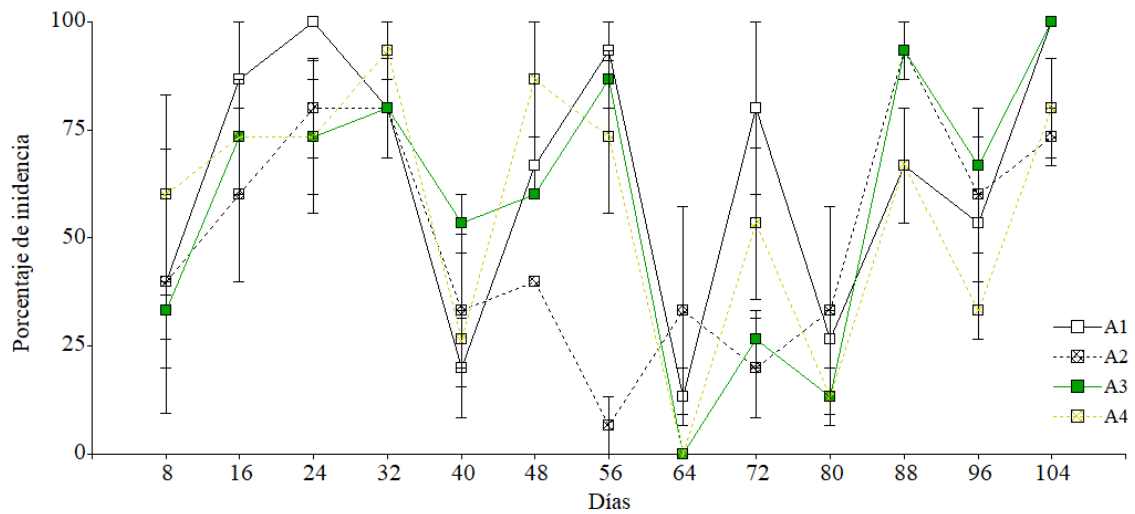
Tabla 12
ADEVA del porcentaje de incidencia – Cámara Húmeda

Fuentes de variación	Grados de libertad FV	Grados de libertad Error	Valor F	Valor p
Días	12	102	15.55	<0.0001
Tratamiento	3	102	2.50	0.064
Días: Tratamiento	36	102	2.08	0.0023

Al indagar sobre bacterias termófilas del suelo con amplio espectro antifúngico contra *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* y *Botrytis cinerea* por error se encontró a *Bacillus amyloliquefaciens* la cual mostro porcentajes favorables para el control de botrytis, al poner en contacto al hongo con *Bacillus amyloliquefaciens* obtuvieron un 100% de inhibición del patógeno (Jamal, Lee, Jeon, Park, y Kim, 2015). Igualmente, en el ensayo realizado se evidenció, que a medida que los días de aplicación iban aumentando progresivamente, el control biológico empezó a presentar mayor control del patógeno, mostrando que mientras más corto sea la frecuencia de aplicación mayor control se obtuvo, debido a que la planta estuvo cubierta por *Bacillus amyloliquefaciens*, quien inhibe la proliferación del hongo al generar algunos polipéptidos como es la irutana A, la cual es antifúngica.

En la evaluación porcentaje de incidencia se puede comprobar que los tratamientos biológicos siempre estuvieron por debajo del control químico, es así que el tratamiento A2 a los 8 días estuvo aproximadamente en un 35% pero entre los días 40 y 80 estuvo con una incidencia entre el 1 y 25%, seguido de los tratamientos A3 y A4 que estuvieron en una un rango de 50 al 75% mientras tanto el tratamiento A1 control químico se mantuvo por encima del 50 al 100% a excepción en el día 64 que fue bajo (Figura 18).

Figura 18
Porcentaje de incidencia – Cámara Húmeda



Se evaluaron racimos de uva en maduración, las cuales fueron encubadas con *Bacillus amyloliquefaciens* durante 13 días, luego fueron inoculas con *Botrytis cinerea*, por 7 días a una temperatura de 25° C y una humedad relativa del 100%, los racimos mostraron un 44.1 a 72.4% de control del patógeno (Rossi, Brischetto, y Fedele, 2020). En cámara húmeda los tratamientos con tratamiento biológico, en especial el tratamiento A2 estuvo por debajo del 50% de incidencia a diferencia del tratamiento químico estuvo entre el 75 y 100% de incidencia (Figura 16).

4.1.2.2 Severidad

Del análisis de varianza porcentaje de severidad expresan que existe interacción entre los factores días y tratamientos ($F= 3.00$; $G1= 36, 102$; $p= <0.0001$) (Tabla 13).

Tabla 13
ADEVA del porcentaje de severidad – Cámara Húmeda

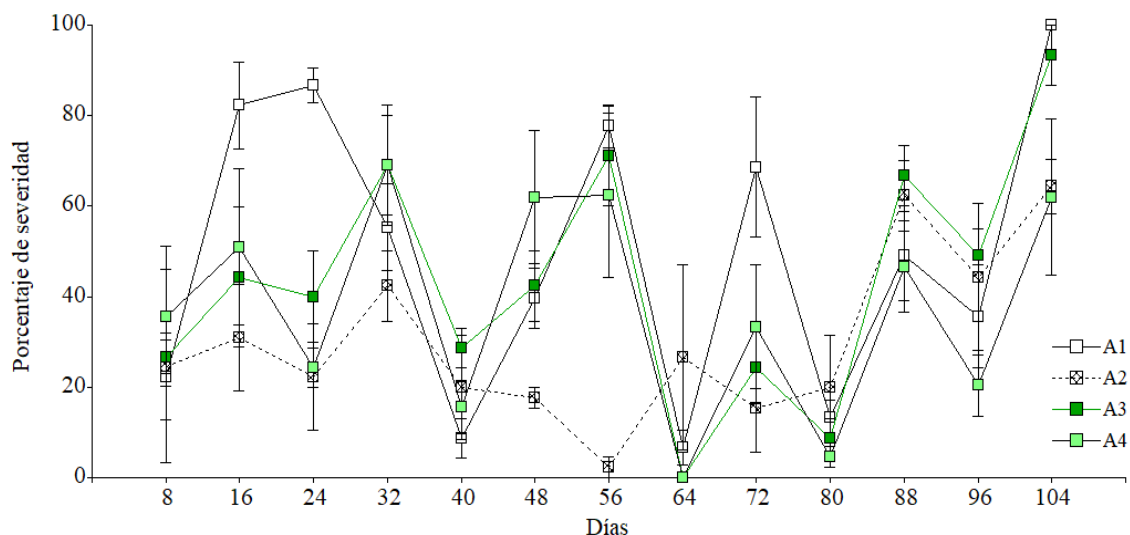
Fuentes de variación	Grados de libertad FV	Grados de libertad Error	Valor F	Valor p
Días	12	102	16,48	<0,0001
Tratamiento	3	102	8,82	<0,0001

Al realizar mutagénesis y optimización de los componentes de *Bacillus amyloliquefaciens* por 3 ocasiones obtuvieron una mutación mejorada con respecto a la original con 7 veces más metabolitos antifúngicos, los cuales al ser aplicados en tomates infectados de *Botrytis cinera*, inhibió el crecimiento al 100% del patógeno (Masmoudi, y otros, 2017). Por lo que en el ensayo realizado en el cultivo de rosa el tratamiento A2, el cual tenía una frecuencia de aplicación cada 4 días presentó menor severidad, debido a que *Bacillus sp.* dentro de sus mecanismos tiene la capacidad de excretar antibióticos, toxinas, sideróforos, enzimas líticas he inducir la resistencia sistémica de la planta (Villarreal Delgado, y otros, 2018), lo cual genera alta protección a la planta contra el patógeno.

La prueba de media LSD Fisher (0.005) muestra que el porcentaje de severidad fue alto para A1 control químico durante todo el ensayo, el cual estuvo entre el 40 y 80% desde el día 16 hasta el día 32, de la misma manera a los días 56, 72 y 104 días, el porcentaje de severidad estuvo entre el 80 y 100%, en relación a los tratamientos A2, A3 y A4 los cuales son control biológico, es así que el tratamiento A2 estuvo respectivamente en el 20 y 40 % desde el día 8 hasta el día 32, sin embargo presentan disminución a partir del día 40 hasta el día 80, manteniéndose entre el 0 y 20%, a continuación esta seguido de los tratamientos A3 y A4 los cuales estuvieron entre 20 y 80% de severidad; evidenciando en el día 56 hay una diferencia del 100% entre el tratamiento A1 y A2 (Figura 19).

Figura 19

Porcentaje de severidad – Camara húmeda



Al aislar *Botrytis cinerea* con que *Bacillus amyloliquefaciens* a una concentración de 3×10^3 UFC/ml mostró una inhibición del 84.04% (Hamdache, Ezziyyan, y Lamarti, 2018). Es importante recalcar que en la investigación la concentración de *Bacillus* fue de 1.6×10^9 UFC/ml, donde se evaluaron frecuencias de aplicación de 4, 6 y 8 días a una misma dosis de 3cc/L, obteniendo resultados relevantes sobre el control del hongo, ya que

en cámara húmeda el tratamiento A2 que se mantuvo entre 0 y 20% de severidad, seguido del tratamiento A3 el cual estuvo entre 35 y 50 % a diferencia del tratamiento A1 fue del 20 al 100%.

Con el monitoreo indirecto de cámara húmeda se puede ratificar el porcentaje de severidad es bajo en el tratamiento A2 ya que se mantuvo entre en 0 y 25% a diferencia del tratamiento A1 estuvo entre el 80 y 100%.

De esta manera se puede confirmar la efectiva aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* reduce tanto la incidencia como la severidad del patógeno debido a la acumulación del producto en la planta.

4.2 VIDA EN FLORERO

4.2.2 Clasificación – Cosechas

Los resultados del análisis de varianza clasificación muestran que durante las 3 cosechas no que existe interacción entre los factores número de cosechas, tratamientos y largo de tallo ($F= 1.21$; $Gl= 24, 118$; $p= >0.2508$). Así también, no existe interacción entre los factores tratamientos y largo de tallo ($F= 0.66$; $Gl= 12, 118$; $p= >0.7848$). Sin embargo, entre los factores número de cosechas y largo de tallo existe interacción altamente significativa ($F= 5.36$; $Gl= 8, 118$; $p= <0.0001$) independientemente de la frecuencia de aplicación tanto del control químico como del biológico. (Tabla 14).

Tabla 14
ADEVA vida en florero- largo de tallo

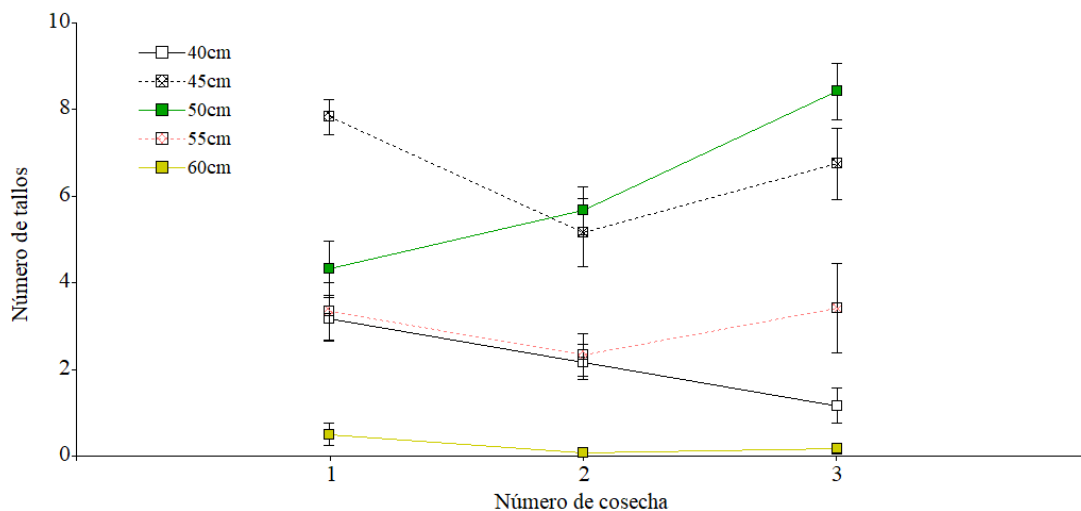
Fuentes de variación	Grados de libertad FV	Grados de libertad Error	Valor F	Valor p
Número cosechas	2	118	2.79	0.0652
Tratamiento	3	118	1.25	0.2939
Largo de tallo	4	118	133.73	<0.0001
Número cosechas: Tratamiento	6	118	0.96	0.4573
Número cosechas: Largo de tallo	8	118	5.36	<0.0001
Tratamiento: Largo de tallo	12	118	0.66	0.7848
Número cosechas: Tratamiento: Largo de tallo	24	118	1.21	0.2508

De lo cual en el análisis de medida LSD fisher (0.005) identifica que en la primera cosecha se obtuvo el 40% de los tallos en 40 cm y tan solo un 5% en 60 cm, mostrando una diferencia del 35% en la primera cosecha. Sin embargo en la cosecha 2 y 3 se evidencia el incremento en los tallos en 50 cm de un 50% a un 90% entre la segunda y tercera cosecha mostrando un aumento del 40%. Los tallos en 55 cm se mantuvieron tanto en la primera y tercera cosecha con un valor del 40%. Sin embargo, los tallos en 40 cm disminuyeron de

un 35% a un 10% entre la primera, segunda y tercera cosecha lo cual es favorable dicha disminución y aumento de tallos más largos en 50 y 55 cm (Figura 20).

Figura 20

Largo de tallos



En lechuga (*Lactuca sativa*) y brócoli (*Brassica oleracea var. italica*) al realizar aplicaciones de *Bacillus spp.* semanalmente mejoró la capacidad para fijar nitrógeno, producir auxinas y solubilizar fosfatos, en campo se pudo observar el incremento de altura de 26.7 % en lechuga y 13.7 % brócoli, el contenido de materia seca, longitud y peso de la raíz tanto en lechuga como en brócoli, con lo cual mejora la calidad del producto y por ende su productividad (Acurio Vásconez, y otros, 2014). Con la aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* en la rosa también se pudo observar que durante las 3 cosechas mejoró el largo de tallo, con lo cual se redujo un 25% de tallos en 40 cm y aumentó el 44% de tallos en 50 cm, sin tomar como referencias ninguna frecuencia de aplicación de la bacteria. Con esto se puede señalar que *Bacillus amyloliquefaciens* ayuda a mejorar la calidad en cuanto se refiere al largo, así como también mejora su productividad.

Mas aun con la aplicación de esta bacteria de puedo evidenciar que no solamente controla el hongo de botrytis, sino que mejoro la calidad de follaje dándole mayor brillo, mejor activación de yemas dormidas y generando mayor número de tallos largos, por lo que podría ser utilizado no solo como un controlador de enfermedades fungosas como es la botrytis sino también activador de yemas y desestresante después de una carga química alta.

4.2.3 Clasificación – Porcentaje de nacional

Al analizar el porcentaje de flor nacional se evidencia que en la primera cosecha los tratamientos con aplicación biológica presentan un porcentaje elevado de 3.3 hasta 5 de media en relación a la aplicación química que la media es 0. Sin embargo, en la segunda cosecha el tratamiento A3 aumenta significativamente a una media de 13.3, lo cual es alto

en relación a los tratamientos A1 y A2 que presentan un 4.44 de media más aun el tratamiento A4 tiene la media más baja que es 0. En la tercera cosecha todos los tratamientos biológicos presentan una media de 0 a diferencia del tratamiento químico que la media es de 1.67 (Tabla 15).

Tabla 15
Porcentaje de nacional

Numero cosechas	Tratamiento	Variable	Media	Error Experimental
1	A1	% nacional	0	0
1	A2	% nacional	3.33	1.67
1	A3	% nacional	8.33	6.01
1	A4	% nacional	5	2.89
2	A1	% nacional	4.44	2.22
2	A2	% nacional	4.44	2.22
2	A3	% nacional	13.33	7.7
2	A4	% nacional	0	0
3	A1	% nacional	1.67	1.67
3	A2	% nacional	0	0
3	A3	% nacional	0	0
3	A4	% nacional	0	0

Cabe señalar que el nacional generado durante las tres cosechas ningún tallo fue descartado por presencia de botrytis, en su mayoría fueron por tallos cortos (menores 40 cm), daño mecánico, otras enfermedades (velloso), entre otras.

4.2.4 Vida en florero – Flores sanas

En el análisis de varianza vida en florero, se pudo identificar que no que existe interacción entre los factores días y tratamientos ($F= 1.18$; $Gl= 45, 510$; $p= >0.2049$), por lo que se acepta la hipótesis alternativa donde se observó que *Bacillus amyloliquefaciens* contuvo el desarrollo del hongo, *Botrytis cinerea* en la variedad Orange Crush (Tabla 16).

Tabla 16
ADEVA – flores sanas

Fuentes de variación	Grados de libertad FV	Grados de libertad Error	Valor F	Valor p
Día	15	510	286,05	<0,0001
Tratamiento	3	510	5,26	0,0014
Día: Tratamiento	45	510	1,18	0,2049

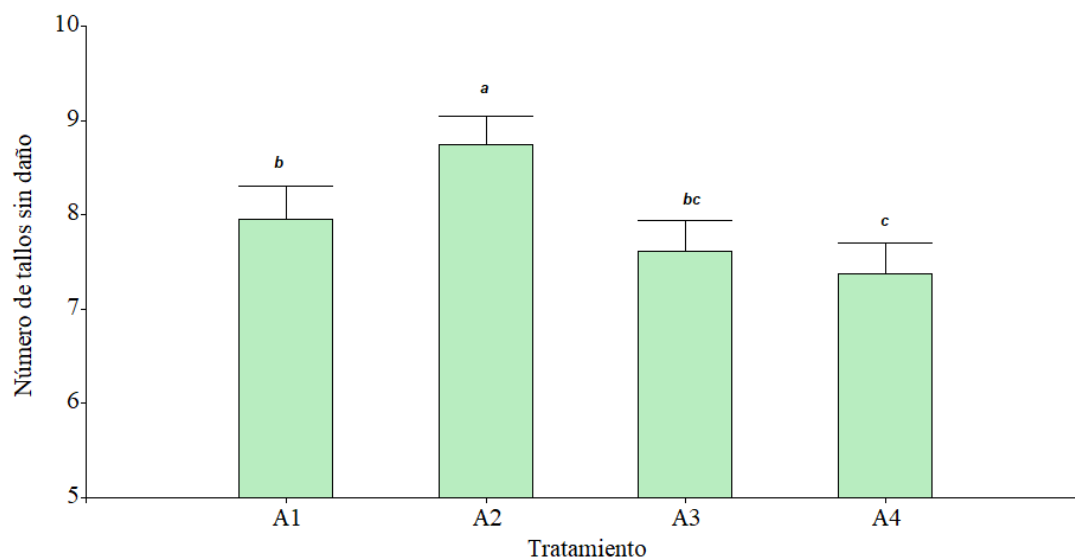
Al usar como producto para contrarrestar a *Botrytis cinera* durante el proceso de poscosecha en cereza (*Prunus cerasus*) se aplicaron a frutos con pequeñas heridas, las cuales presentaron un 75% de frutos sanos y menos del 37.5% de frutos podridos por el

hongo (Gotor Vila , y otros, 2017). De la misma manera en la vida en florero se observó que el tratamiento A2 tuvo el mayor número de flores sin presencia del patógeno, obteniendo 80% de flores sanas durante los 15 días, a diferencia de los tratamientos A1 y A3, los cuales estadísticamente son parecidos al haber perdido un 33% flores por presencia del patógeno, quedando el 66% de flores sanas hasta los 15 días. De la misma manera se puede identificar que el tratamiento A4 tuvo pérdidas significativas de hasta un 42%, lo cual muestra una diferencia entre el tratamiento A2 y el A4 de un 25%.

A su vez, al aplicar *Bacillus amyloliquefaciens* más aceite de tomillo (*Thymus sp.*) y limoncillo (*Cymbopogon Citratus*) para el almacenamiento en poscosecha de melocotón (*Prunus persica*), a una temperatura de 25°C por 5 días, evidenció que todos los frutos estuvieron sanos hasta su consumo, es decir, el control de patógeno fue del 100% (Arrebola , Sivakumar, Bacigalupo y Korsten, 2010).

En la variedad orange crush, durante el tiempo de rotación desde la clasificación hasta llegar a vida en florero la cual sufrió cambios bruscos de temperatura en la prueba de vuelo pasando de temperaturas menores a 2°C en almacenamiento a temperatura ambiente ningún tratamiento presentó presencia del patógeno, sin embargo, en la evaluación vida en florero durante los 15 días el tratamiento A2 tuvo una pérdida del 20% mientras que los tratamientos A1 y A3 presentaron una pérdida del 33% y el tratamiento A4 un 42% mostrando de esta manera que la bacteria evita a gran escala la proliferación del hongo durante la vida útil de la rosa desde su cosecha hasta la vida en florero, cumpliendo con el objetivo de la flor cortada (Figura 22).

Figura 22
Tallos sin Botrytis



Al aplicar un producto biológico para el control de botrytis como es *Bacillus amyloliquefaciens* en la uva, la cual estuvo por 30 días almacenada a una temperatura de 0°C se redujo la presencia del patógeno del 4.3% al 0.7% mostrando una efectividad en el producto final; de la misma manera en arándanos (*Vaccinium myrtillus*) almacenados por 30 días a una temperatura de 0°C tuvo una disminución del hongo de 28.2 a 10.5% (UPL OpenAG, 2017).

Con lo que permite afianzar la calidad del producto final, como es el caso de la rosa variedad orange crush la cual alcanzó buenos resultados al aplicar *Bacillus* como preventivo y control del hongo mostrando en el tratamiento A2 hasta un 80% de flores sanas seguido de los tratamientos A1 y A3 que presenta pérdidas del 33%, y A4 42% de flores afectadas, lo que permite observar que mientras más corto sea el tiempo de aplicación del producto la vida de la rosa mejora sustancialmente, pudiendo mantener las rosas más de 8 días en el florero, siendo esto beneficioso tanto para el cliente como para el productor ya que garantiza calidad y costo.

En este mismo contexto se evaluó a *Bacillus amyloliquefaciens* como inhibidor de mohos fungosos que causan podredumbre de frutas especialmente *Botrytis cinera*, durante el proceso poscosecha y distribución, a temperaturas de 0 a 10°C y temperatura ambiente por 72 horas, los cuales controlaron la proliferación del hongo en un 30% a temperaturas bajas y al ambiente al 100%. (Calvo Crespo, 2016).

Igualmente, en el ensayo se pudo evidenciar que luego del proceso de poscosecha y prueba de vuelo la rosa al ser tratada con *Bacillus amyloliquefaciens* con diferentes frecuencias de aplicación a una misma dosis puede generar pérdidas mínimas en vida de florero, como se evidenció en el tratamiento A2 el cual perdió el 20 % y el 80% fueron sanas durante los 15 días de evaluación, de manera similar los tratamientos A3 y A4 tuvieron pérdidas del 33 y 42% respectivamente, y que el 58 – 60% de flores estuvieron sanas durante los días de evaluación, por lo tanto, esta bacteria es una alternativa para el proceso de rotación de productos en la prevención y control del patógeno.

4.3 ANÁLISIS ECONÓMICO

4.3.1 Costo de producción

En el análisis económico se evidenció que controlar el hongo de *Botrytis*, de manera biológica genera un rubro alto, de acuerdo a su frecuencia de aplicación, ya que mientras más corta sea, más elevado es el costo, es así que el tratamiento A2 presentó condiciones favorables tanto en campo como en la vida de florero en el control del patógeno, el cual proporcionó un costo de \$ 1.29 por tallo exportado, seguido del tratamiento A3 que generó un costo menor de \$1,02 por tallo ya que su aplicación fue cada 6 días y el tratamiento A4 tuvo un costo inferior de \$0.95ctv por su aplicación de cada 8 días; a diferencia del tratamiento A1 con un control químico, que costó \$0.28 ctv. dejando una diferencia de \$1.01 entre el tratamiento A1 y A2, tomando en consideración que los rubros evaluados fueron netamente la aplicación del *Bacillus amyloliquefaciens* y los fungicidas usados para el control de *Botrytis cinera* (Tabla 17).

Tabla 17
Costo de producción

COSTO DE PRODUCCIÓN										
TRAT	COSTO TRAT.USD	COSTO Ha USD	TALLOS COSECHADOS	M2	FLORES M2	COSTO M2	COSTO FLOR	COSTO TALLO VENDIDO	RETORNO USD	COSTO BENEFICIO
A1 (Testigo)	2214,5	38977,9	7743	576	13,44	3,84	\$0,2860	\$0,320	\$2.477,75	12%
A2 (4 Días)	9529,1	55232,1	7344	576	12,75	16,54	\$1,2975	\$0,320	\$2.350,07	-75%
A3 (6 Días)	8420,4	48816,4	8217	576	14,27	14,62	\$1,0248	\$0,320	\$2.629,43	-69%
A4 (8 Días)	8262,1	47899,9	8607	576	14,94	14,34	\$0,9599	\$0,320	\$2.754,23	-67%

El precio de productos orgánicos por unidad fue superior al convencional, donde la diferencia porcentual en precios para zanahoria fue de 28.57%, apio 40%, culantro 25%, papa 53.33%, lechuga 33.33% y brocoli 66.67%, con el manejo convencional mostraron mayor costo de producción con respecto a los productos orgánicos, esto es un 41.70% superior para zanahoria, 65.18% para apio, 29.03% para culantro, 34.78% para papa, 16.65% para lechuga y 44.91% para brócoli; con lo cual se puede evidenciar que el costo es mayor al costo de venta de un producto orgánico vs al convencional, así también, el costo de producción varía siendo menor producir productos orgánicos vs a un convencional (Arce Quesada, 2020).

También en banano producido de manera orgánica ha producido 359 millones de dólares y en cacao 37 millones de dólares anuales lo que se evidencia que producir con utilización de productos biológicos u orgánicos van tomando mayor apertura debido a que cuida el ambiente y la salud humana (Monitoreo de Noticias, 2018).

Dentro de los principales rubros se tomaron gastos directos como fertilización, manejo de enfermedades (*botrytis*) y mano de obra, así como también, los gastos indirectos

como papelería, pasajes, entre otros y los imprevistos por cada tratamiento durante todo el ensayo.

Sin embargo, al no haber estadísticamente diferencias significativas el retorno invierte el gasto versus el beneficio, es así que el tratamiento A4 con frecuencia de aplicación cada 8 días tiene un retorno de \$2 237.81 dólares americanos debido a que se cosecharon 8 607 tallos, reduciendo el nacional que es el 1.25% establecido en la finca florícola, de la misma manera se puede distinguir en los tratamientos A3 con un retorno de \$2 136.41 dólares y A2 de \$1 909.43 dólares, así también el tratamiento A1 control químico generó un retorno de \$2 013.17 dólares mostrando una diferencia de \$ 123.24 dólares entre el tratamiento A4 y A1. De la misma manera la diferencia entre el tratamiento A2 el cual mostro diferencias significativas tanto en campo y vida en florero versus A1 control químico es de \$103 .07, el cual se podría ser compensado por el volumen de venta.

4.3.2 Productividad

Al realizar el análisis de varianza productividad se examina que no que existe interacción entre los factores semana y tratamiento ($F= 1.44$; $Gl= 39, 110$; $p= >0.0725$), por lo que se no infiere la aplicación del *Bacillus* en la productividad. De hecho, hay variación significativa en las semanas debido al aumento de tallos cosechados por semana (Tabla 18).

Tabla 18
ADEVA productividad

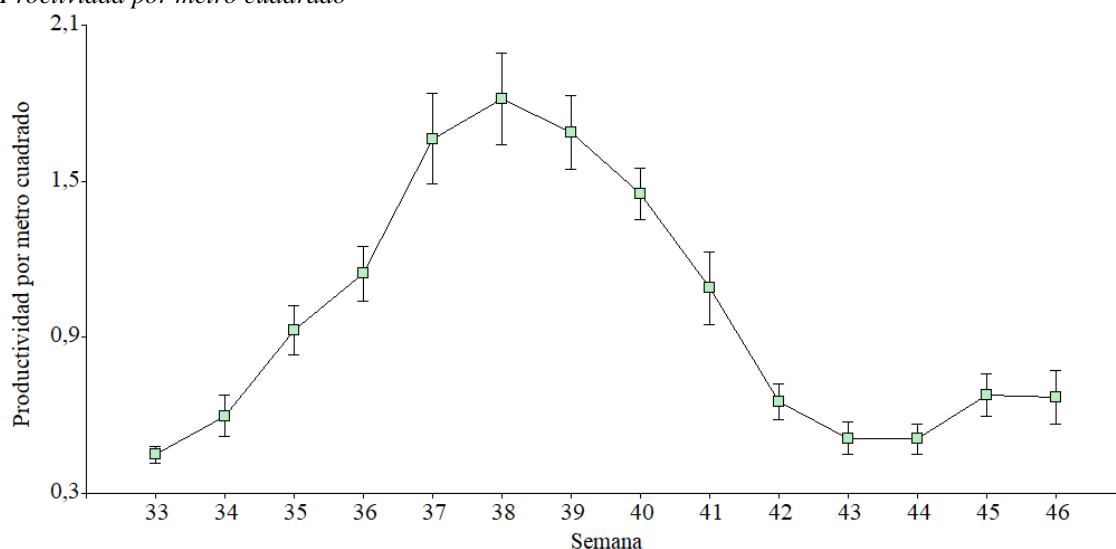
Fuentes de variación	Grados de libertad FV	Grados de libertad Error	Valor F	Valor p
Semana	13	110	25.65	<0.0001
Tratamiento	3	110	1.91	0.1324
Semana: Tratamiento	39	110	1.44	0.0725

Al realizar aplicaciones de *Bacillus amyloliquefaciens* más algunos nutrientes necesarios al suelo en tomate (*Solanum lycopersicum* L) mejoró la calidad de frutos, mejorando sustancialmente su productividad del 8 al 9% (Gul, Kidoglu, Tüzel, & Tüzel, 2008).

Más sin embargo, al examinar la productividad de la rosa mediante la prueba LSD Fisher (0.005) se estableció que durante las semanas de aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens* no existe diferencia significa por ello se ve que la producción sube desde la semana 35 con 0.9 tallos por metro cuadrado, alcanzado el pico de producción en la semana 38 con una producción de 2.1 flores por metro cuadrado manteniéndose con productividades altas durante 6 semanas, a medida que disminuye el pico de cosecha se estabilizar en la semana 42 con una productividad de 0.8 flores por metro cuadrado.

La cantidad de tallos totales cosechados por tratamiento durante toda la investigación fueron: para el tratamiento A1 7 743 tallos, el tratamiento A2 tuvo una cosecha de 7 344 tallos, el tratamiento A3 fue de 8 217 tallos y en el tratamiento A4 hubo una cosecha de 8 607 tallos los cuales se puede evidenciar en la figura 15 en la cual muestra la cantidad de tallos cosechados por semana y por metro cuadrado.

Figura 23
Productividad por metro cuadrado



Al inocular con *Bacillus amyloliquefaciens* a 2 híbridos de maíz (*Zea más*) favoreció el peso fresco de la planta, peso seco, diámetro de tallo, número de elotes, peso fresco de raíz y en longitud de la raíz; de la misma manera *Bacillus subtilis*, mejoró el peso fresco de la raíz respecto al testigo (Gallegos Robles, y otros, 2020). Sin embargo, en la rosa no se evidenció un incremento de productividad en ninguno de los tratamientos, por la aplicación de *Bacillus amyloliquefaciens*, lo que se pudo determinar es que con la aplicación de este *Bacillus* mejoró el largo de tallo.

El costo de controlar botrytis mediante aplicación biológica en rosas de exportación es elevado, observando grandes variaciones de \$1.29 que tuvo el tratamiento A2 el cual asumió resultados favorables tanto en campo como vida en florero a diferencia del control químico A1 el cual cuesta \$0.28ctvs su control, revelando una diferencia de \$1.01.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se identificó como mejor tratamiento en el control de botrytis del cultivo de rosa el tratamiento A2 con una frecuencia de aplicación cada 4 días con una dosis de 3cc/L. el cual se mantuvo por debajo del 3% siendo el umbral de daño económico establecido para finca Falconfarms de Ecuador Flores de la Montaña.
- Al analizar los datos de incidencia y severidad, obtenidos tanto de monitoreo en campo como de cámara húmeda, se observó que el control biológico es una opción para formar parte de una rotación dentro de los agroquímicos que se usan para el control de *Botrytis cinerea* en la florícola, mitigando los daños al ambiente y a la salud humana.
- Al momento de realizar la comparación del costo de producción, se puede observar que, para controlar *Botrytis cinerea*, mediante aplicación biológica el valor es más elevado frente al control del patógeno mediante aplicación química.
- En la vida en florero, se pudo observar que el tratamiento A2 durante las tres evaluaciones fue el tratamiento que presentó el menor número de tallos eliminados por causas de *Botrytis cinerea*, lo cual está dentro del rango entre los 8 a 10 días, que debe durar una rosa en florero.

5.2 RECOMENDACIONES

- Ensayar con la alternancia de un producto químico, con la misma frecuencia de aplicación del *Bacillus*, con lo que se podrá establecer como un producto de rotación dentro de un programa para el control de *Botrytis cinera*.
- Realizar el análisis de laboratorio para ratificar el porcentaje Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de *Bacillus amyloliquefaciens* P. debido a que el porcentaje del hongo es una limitante de las frecuencias de aplicación.
- Evaluar dosis mayores a 3cm³/L del *Bacillus* con lo cual se pueda obtener mejores resultados en el control del patógeno.
- Evaluar la utilización del *Bacillus amyloliquefaciens* P. en temporadas de alta producción, de esta manera se asegura generar mayor rentabilidad con el uso del producto.

REFERENCIAS

- Acurio Vásconez, R. D., Mamarandi Mossot, J. E., Ojeda Sagnay, A. G., Tenorio Moya, E. M., Chiluisa Utreras, V. P., & Vaca Suquillo, I. D. (2014). Evaluación de *Bacillus* spp. como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y lechuga (*Lactuca sativa*). *Agrosavia*, 21(3). doi:<https://doi.org/10.21930/rcta>.
- Arce Quesada, S. E. (2020). Análisis comparativo de precios y costos de producción de hortalizas cultivadas de manera orgánica y convencional. *Agronomía Costarricense*, 44(2). doi:<http://dx.doi.org/10.15517/rac.v44i2.43091>
- Agro Bayer Ecuador. (15 de Septiembre de 2020). *Rosa*. Obtenido de <https://agro.bayer.ec/cultivos/rosa#:~:text=La%20provincia%20de%20Pichincha%20es,sobre%20el%20nivel%20del%20mar.&text=En%20el%20Ecuador%20se%20cultivan,rosas%20y%20flores%20de%20Verano>.
- AgrofyNews. (2020). *Incidencia y severidad*. Obtenido de <https://news.agrofy.com.ar/noticia/177111/incidencia-y-severidad-video-muestra-como-realizar-correcta-evaluacion>
- Arrebola , E., Sivakumar, D., Bacigalupo, R., & Korsten, L. (2010). Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. *Crop Protection*, 29, 369-377. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.08.001>
- Arzate Fernández, A. M., Bautista Puga, M. D., Piña Escutia, J. L., Reyes Díaz, J. I., & Vásquez García, L. M. (2014). *Técnicas tradicionales y biotecnológicas del rosal (Rosa spp.)*. (1, Ed.) México: (L.C) Library of Congress. Obtenido de <https://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/21611/T%C3%A9cnicas%20rosal.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Asitimbay, A. (20 de Diciembre de 2011). *Importancia de las exportaciones de flores tropicales período 2008 - 2010*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/1164>
- Calvo Crespo, H. (2016). “Biocontrol de patógenos en campo: desarrollo de sistemas de detección precoz y herramientas de lucha integrada”. *Master*. Universidad de Zaragoza, España. Obtenido de <https://zaguan.unizar.es/record/57951/files/TAZ-TFM-2016-1094.pdf>

- Calvo Crespo, H. (2020). Biocontrol de podredumbres en frutas por bacillus amyloliquefaciens buz-14. *Dialnet*.
- Calvo Garrido, C., Roudet, J., Aveline, N., Davidou, L., & Dupin, S. (11 de Febrero de 2019). Antagonismo microbiano hacia la pudrición del racimo de uvas por botritis en múltiples pruebas de campo utilizando una cepa de Bacillus ginsengihumi y productos de control biológico formulados. *Frontiers*, 1. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00105>
- Canna. (11 de Noviembre de 2016). *Botrytis cinerea - Plagas y Enfermedades*. Obtenido de <https://www.canna.es/botrytis-cinerea-plagas-enfermedades>
- Cano, M. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, Trichodema spp. y Pseudomonas spp. *Artículo técnico*. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U. D. C. A.
- Cerrillo, A. (23 de Abril de 2010). *La Vanguardia*. Obtenido de Culturas antiguas, religiones, creencias e ideologías han utilizado la rosa como emblema: <https://www.lavanguardia.com/libros/20100423/53913545357/culturas-antiguas-religiones-creencias-e-ideologias-han-utilizado-la-rosa-como-emblema.html>
- CERTIS agricultura sostenible y rentable. (Abril de 2021). AMYLO-X® WG. *Fungicida - bactericida de origen natural, I(1)*, 3. España. Obtenido de https://www.certiseurope.es/fileadmin/ES/Descargas/Productos/Solution_Finder/AMYLO-X_WG/Folleto_Amylo-X_WG_Lechuga.pdf
- Chaw Ei, M., Woon Seon, B., Tae Gyu, C., & Kil Yong, K. (2021). Control de la enfermedad del moho gris en fresa usando el agente efectivo, Bacillus amyloliquefaciens Y1. *Ciencia y Tecnología de Biocontrol*, 31(5), 468-482. doi:<https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1867707>
- Chiou, L. (2003). Formulation of Bacillus amyloliquefaciens B190 for Control of Lily Grey Mould (Botrytis elliptica). *ResearchGate*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/227928330_Formulation_of_Bacillus_amyloliquefaciens_B190_for_Control_of_Lily_Grey_Mould_Botrytis_elliptica
- CompoExpert. (2020). *Ficha técnica de Vitanica*. Quito.
- Datos Genómicos de BMC. (20 de Agosto de 2018). *El análisis comparativo de RNA-Seq revela un papel fundamental de los brasinoesteroides en la defensa fundamental del pétalo de rosa (Rosa hybrida) contra la infección por Botrytis cinera*. Obtenido de <https://bmcgenomdata.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12863-018-0668-x>

- Dávila, J. (2017). La situación actual de la susutitución de insumos agroquímicos por productos biológicos como estrategia en la producción agrícola: El sector florícola ecuatoriano. *Maestría en relaciones internacionales*. Universidad Andina Simón Bolívar sede Ecuador, Quito.
- Decreto Legislativo. (25 de Enero de 2021). CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR 2008. Quito, Pichincha, Ecuador. Obtenido de https://www.defensa.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2021/02/Constitucion-de-la-Republica-del-Ecuador_act_ene-2021.pdf
- Delgado, M., Rodríguez, E., Chávez, L., Alvarado, M., Cota, F., & Villalobos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Scielo*.
- Delgado, M., Villa, E., Cira, L., Estrada, M., Parra, F., & Santos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Artículo técnico*. Instituto tecnológico de Sonora, Sonora.
- Economía y Finanzas Internacionales. (17 de Enero de 2010). *Cultivos de Rosas en el Ecuador*. Obtenido de <http://puceae.puce.edu.ec/efi/index.php/economia-internacional/14-competitividad/177-cultivos-de-rosas-en-el-ecuador>
- Elsevier Ltd. (1996). *Science Direct*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219496000427>
- Expoflores. (2019). *Informe anual de exportaciones a Estados Unidos 2019*. Ecuador.
- Falconfarms de Colombia S. A. (2020). *Comparativo número de reportes de botrytis por variedad 2018 - 2020*. Colombia.
- Falconfarms de Ecuador S. A. (2020). *Ubicación de áreas y naves*. Cayambe.
- Flores hermosas. (2022). *Rosas*. Obtenido de <https://www.floreshermosas.top/rosas/>
- Flores, D. (2018). Efecto del biol sobre las enfermedades fúngicas en el cultivo de rosas (*Rosa spp*) variedad freedom en la florícola Flor de Azama, provincia de Imbabura. (*Tesis de Pregrado*). Universidad Técnica del Norte, Ibarra.
- Gallegos Robles, M. Á., Rodríguez Hernández, M. G., Rodríguez Sifuentes, L., Fortis Hernández, M., Luna Ortega, J. G., & González Salas, U. (2020). Cepas nativas de *Bacillus spp.* como una alternativa sostenible en el rendimiento de forraje de maíz. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 313-321. doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.690>

- García, M., Polo, E., Valentina, F., Salas, L., & Avedaño, K. (2 de Octubre de 2017). *Taxonomía en plantas*. Obtenido de <http://taxonomiaenplantas2017.blogspot.com/2017/10/rosa.html>
- Gestiones & Representaciones Chía. (2020). *Manual de aplicación de plaguicidas para la protección de cultivos*. Colombia .
- Gestiones & Representaciones Chía . (2020). *Procedimiento para la simulación de viaje y evaluación de vida en florero*. Colombia.
- Gestiones & Representaciones CHÍA. (2019). *Manual de Manejo Botrytis en Rosa*. Colombia .
- Gestiones & Representaciones Chía. (2019). *Monitoreo directo plagas y enfermedades* . Colombia.
- Gotor Vila , A. M., Teixidó Espasa, N., Di, F. A., Usall Rodié, J., Ugolini, L., Torres Sanchis, R., & Mari, M. (2017). Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 against fruit pathogen decays of cherry. *La Referencia*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.006>
- Gul, A., Kidoglu, F., Tüzel, Y., & Tüzel, I. (2008). Effects of nutrition and "Bacillus amyloliquefaciens" on tomato ("Solanum lycopersicum L.") growing in perlite. *Dialnet*(3), 422-429.
- Hamdache, A., Ezziyyan, M., & Lamarti, A. (16 de Mayo de 2018). Effect of preventive and simultaneous inoculations of *Bacillus amyloliquefaciens* (Fukumoto) strains on conidial germination of *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. *Anales de biología*. doi:<https://doi.org/10.6018/analesbio.40.08>
- Hervario Virtual. (2020). *Cátedra de fitopatología - FAUBA*. Obtenido de http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=977
- Husqvarna. (7 de Julio de 2019). *Botrytis, una de las enfermedades más comunes de los cultivos hortícolas*. Obtenido de <https://www.todohusqvarna.com/blog/botrytis/>
- INEC Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2014). *Uso y manejo de agroquímicos en la agricultura 2014*. Ecuador.
- InfoAgro. (Julio de 2018). *El cultivo de la rosa*. Obtenido de https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_rosa.asp
- InfoAgro.com. (2016). *Técnicas para el control de botrytis (2da parte)*. Obtenido de <https://www.infoagro.com/abonos/botrytis2.htm>

- Jamal, Q., Lee, Y. S., Jeon, H. D., Park, Y. S., & Kim, K. Y. (2015). Isolation and Biocontrol Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* Y1 against Fungal Plant Pathogens. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* (*한국토양비료학회지*), 48(5), .485-491. Obtenido de <https://koreascience.kr/article/JAKO201534165173615.page>
- José, V. (16 de Diciembre de 2020). *Botrytis cinerea: características, taxonomía, síntomas, control* . Obtenido de <https://www.lifeder.com/botrytis-cinerea/>
- Lavilla, M., & Ivancovich, A. (Agosto de 2016). Propuestas de escalas para la evaluación, a campo y en laboratorio, del “tizón foliar” y la “mancha púrpura de la semilla”, causadas por *Cercopora kikuchii*, en soja. *Estación Experimental Agropecuaria Pergamino*. Obtenido de https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pergamino_propuestas_de_escalas_para_la_evaluacion_a_campo_y_en_laboratorio_del_tizon_foliar_y_la_mancha_purpura_de_la_semilla_en_soja.pdf
- López, R. (Mayo de 2017). *Manual para el manejo del cultivo de rosas*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/RosonielAguilar/manual-para-el-manejo-de-rosas>
- Mari, M., Guizzadi, M., Brunelli, M., & Folchi, A. (8 de Marzo de 2003). Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection*, 15, 8. doi:[https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(96\)00042-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(96)00042-7)
- Martínez, L. (21 de Abril de 2021). *TecnoVita*. Obtenido de La bacteria *Bacillus* en el Manejo Integrado de Plagas: Una amiga para el agricultor moderno: <https://tecnovitaca.com/bacillus-agricultura/>
- Masmoudi, F., Khedher, S. B., Kamoun, A., Zouari, N., Tounsi, S., & Trigui, M. (Abril de 2017). Efecto combinatorio de mutagénesis y optimización de componentes medios sobre la actividad antifúngica y la eficacia de *Bacillus amyloliquefaciens* en la erradicación de *Botrytis cinerea*. *Science Direct*, 197, 29-38. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.01.001>
- Matute Calle, P. F. (2019). Control biológico del moho gris (*Botrytis cinerea*) en cultivos de fresa (*Fragaria vesca* L.) mediante hongos filamentosos antagonistas. *Pregrado*. Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, Cuenca, Azuay, Ecuador. Recuperado el 2022, de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18147/1/UPS-CT008620.pdf>

- Maung, C., Baek, W., Choi, T., & Kim, K. (Diciembre de 2020). Control de la enfermedad del moho gris en la fresa utilizando el agente eficaz, *Bacillus amyloliquefaciens* Y1. *Ciencia y Tecnologías de Biocontrol*. Recuperado el 2 de Julio de 2021
- Metaflor-agro. (2 de Agosto de 2017). *Consideraciones para el manejo de Botrytis*. Obtenido de <https://www.metroflorcolombia.com/consideraciones-para-el-manejo-de-botrytis/>
- Metroflor-agro. (11 de Octubre de 2020). *Evaluación de Picatina Flora® para el control de Botrytis cinerea en el cultivo de rosa*. Obtenido de <https://www.metroflorcolombia.com/evaluacion-de-picatina-flora-para-el-control-de-botrytis-cinerea-en-el-cultivo-de-rosa/>
- Moal, A., Devillard, E., & Sidelmann Brinch, K. (2020). Visualización de la germinación de *Bacillus subtilis*. *Revista nutriNews Septiembre*. Obtenido de <https://nutrinews.com/visualizacion-de-la-germinacion-de-bacillus-subtilis/>
- Monitoreo de Noticias. (11 de Agosto de 2018). La agricultura orgánica crece en Ecuador. *O.CARU Observatorio del cambio rural*. Obtenido de <https://ocaru.org.ec/2018/08/11/la-agricultura-organica-crece-en-ecuador/>
- Nagua Ortega , E. S. (2016). USO DE LA BACTERIA BACILLUS SUBTILIS COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN CULTIVOS TROPICALES. *Pregrado*. Universidad Técnica de Machala, Machala. Obtenido de http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7606/1/DE00003_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf
- Orellana, E. (2011). Análisis de la interacción *Rosa* spp.- *Botrytis cinerea* Pers. : sintomatología, análisis de la expresión de genes de resistencia "in planta" y proceso de infeccioso del patógeno. (*Tesis de licenciatura*). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Ornamentales Syngenta Colombia. (27 de Abril de 2018). *Botrytis, biología del patógeno: la base de un control químico eficiente*. Obtenido de <https://www.syngentaornamentales.co/news/articulo/botrytis-biologia-del-patogeno-la-base-de-un-control-quimico-eficiente>
- PMC National library of medicine. (2020). *Food science & nutritio*.

- PortalFrutícola.com. (19 de Marzo de 2016). *Manual completo para cultivar rosas*. Obtenido de <https://www.portalfruticola.com/noticias/2016/03/19/manual-completo-para-cultivar-rosas-incluye-pdf/>
- Postharvest Biology and Technology. (2017). Efficacy of cell free supernatant from *Bacillus subtilis* ET-1, an Iturin A producer strain, on biocontrol of green and gray mold. *Crop Protection*.
- Promix. (2 de Octubre de 2020). *Perfil de las enfermedades de las raíces: Botrytis*. Obtenido de <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/perfil-de-las-enfermedades-de-las-raices-botrytis/>
- Rossi, V., Brischetto, C., & Fedele, G. (14 de Agosto de 2020). Biocontrol of *Botrytis cinerea* on Grape Berries as Influenced by Temperature and Humidity. *ORIGINAL RESEARCH article*. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01232>
- Terralia. (2019). *Basillus amyloliquefaciens cepa FZB242,5x10⁷ UFC/ml. SL Rhizovital*. Obtenido de https://www.terralia.com/productos_e_insumos_para_agricultura_ecologica/view_composition?composition_id=11038#:~:text=Indicado%20como%20fitofortificante%20de%20las,tratamientos%20al%20inicio%20del%20cultivo.
- Túqueres, L. (2016). Respuesta del cultivo de rosa (*Rosa* sp.) a la aplicación de trichoderma (*Trichoderma harzianum*) para el manejo de botrytis (*Botrytis cinerea*) Pers.Fr. (*Tesis de pregrado*). Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Universidad de Caldas. (2019). *Desarrollo de capacidades científicas y tecnológicas en biotecnología aplicadas a los sectores de la salud y la agroindustria en el departamento de Risaralda*. Obtenido de <https://doctoradoagrarias.files.wordpress.com/2016/05/anteproyecto-liv-final.pdf>
- Universidad Nacional de Colombia. (23 de Abril de 2020). *Bacterias contribuyen a controlar el moho gris en las rosas*. Obtenido de <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/bacterias-contribuyen-a-controlar-el-moho-gris-en-las-rosas.html>
- UPL OpenAG. (2017). *Producto biológico para el control de botrytis*. Obtenido de https://cl.uplonline.com/download_links/3yAT39PiptG8VSANk9u3PhuyWaWvBUQQYLpXm2UG.pdf
- UPL OpenAg. (2019). *Biofungicida Amylo-X 25 WG*. Santiago.

- Villarreal Delgado, M. F., Villa Rodríguez, E. D., Cira Chávez, L. A., Estrada Alvarado, M. I., Parra Cota, F. I., & de los Santos Villalobos, S. (2018). Revista mexicana de fitopatología. *ReEl género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícolavista mexicana de fitopatología*. Instituto Tecnológico de Sonora, Mexico . doi:<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Viera Arroyo, W. F. (Noviembre de 2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128-149. doi:<https://doi.org/10.36610/j.jsab.2020.080200128>
- Wu, C. (2003). *Formulación de Bacillus amyloliquefaciens B190 para el Control del Moho Gris Lirio (Botrytis elliptica)*. Universidad Nacional de Taiwán, Taipei. Recuperado el 2 de Julio de 2001
- Yong, A. (2004). *Cultivos tropicales*. Obtenido de El cultivo del rosal y su propagación : <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193217832008.pdf>
- Zhou, Q., Fu, M., Xu, M., Chen, X., Qiu, J., Wang, F., . . . Chen, L. (2020). Application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* NCPSJ7 against *Botrytis cinerea* in postharvest Red Globe grapes. *Food Science & Nutrition*.

ANEXOS

Anexo 1

Acta de aprobación tesis con finca Falconfarms de Ecuador Flores de la Montaña

Cayambe, 03 de marzo del 2021

ACTA DE COMPROMISO

La empresa Falconfarms de Ecuador S. A. Finca Flores de la Montaña, autoriza a la estudiante Sandra Verónica Campués Cholca con número de cédula de identidad 172060875-9, de la Universidad Técnica del Norte, carrera de Ingeniería Agropecuaria, para que realice el proyecto de tesis titulado "EVALUACIÓN DE AGENTES BIOLÓGICOS (*Bacillus amylolicuefaciens*) CEPA R6 – CDX EN EL CONTROL DE BOTRYTIS (*Botrytis cinérea*) EN EL CULTIVO DE ROSA (*ROSA SP.*) VARIEDAD ORANGE CRUSH EN LA FINCA FLORES DE LA MONTAÑA, PICHINCHA – CAYAMBE" en las instalaciones de la misma.

El presente compromiso tiene por objeto asegurar la aceptación expresa de las condiciones en las que se desarrollará el trabajo de tesis, en la cual estudiará las dosis del biofungicida en el control de botrytis en el cultivo de rosa, la investigación se llevarán en campo utilizando un diseño estadístico para la toma de datos y su análisis, dicho documento será incluido en la defensa del anteproyecto debido a que es un requisito necesario para su aprobación.

Para validez del documento firma:

A circular stamp with the text "FLORES DE LA MONTAÑA" around the perimeter and "FALCONFARMS" in the center. Below "FALCONFARMS" is the text "Falcon Farms de Ecuador S.A.". A handwritten signature is written across the stamp.

Ing. Oscar Gualoto
GERENTE FINCA
Flores de la Montaña

Anexo 2
Monitoreo campo



Anexo 3
Botrytis cinérea



Anexo 4
Cámara húmeda



Anexo 5
Toma de datos cámara húmeda



Anexo 6
Cosecha de tratamientos



Anexo 7
Recepción en poscosecha



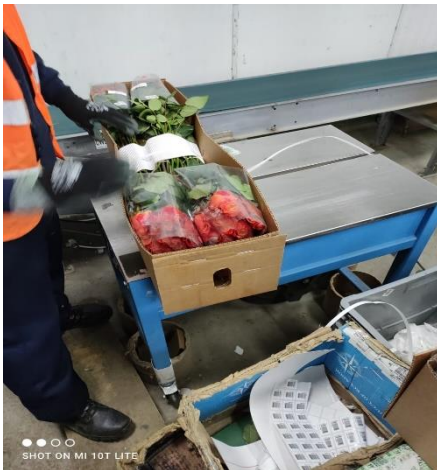
Anexo 8
Clasificación por tratamiento y repetición



Anexo 9
Boncheo por tratamiento y repetición



Anexo 10
Empacado de ramos en fules



Anexo 11
Prueba de vuelo



Anexo 12
Vida en florero



Anexo 13
Toma de datos vida en florero



Anexo 14

Ficha técnica de Vitanica RZ

EXPERTS FOR GROWTH



Vitanica® RZ



Fertilizante foliar líquido

■ Nombre Comercial	Vitanica® RZ
■ Nombre Químico	Fertilizante líquido enriquecido con extracto de algas y <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .
■ Nombre común	Vitanica® RZ
■ Grado	AGRÍCOLA
■ Comercializado por	COMPO EXPERT Chile Fertilizantes Ltda.

ANÁLISIS QUÍMICO

Nitrógeno total.....	5.5 ..% p/v (N)
Nitrógeno Ureico	3.85 ..% p/v
Nitrógeno Nítrico	1.65 ..% p/v
Potasio (soluble en agua)	5.5 ..% p/v (K ₂ O)

Otros Ingredientes

Bacillus amyloliquefaciens cepa R6-CDX® 1,6X10⁹ UFC/ml de bacterias
Ecklonia maxima: 33% p/v

ANÁLISIS FÍSICO

APARIENCIA	Líquido verde
DENSIDAD a 20°C	1,1
PH (Sol 50g/l H ₂ O)	3,5 – 5,0
TOXICIDAD	NO TOXICO, NO INFLAMABLE, NO CORROSIVO Y NO PELIGROSO
ENVASES	BIDONES PLASTICOS DE : 10L

DESCRIPCIÓN

Vitanica® RZ es un abono líquido NK enriquecido con extracto de *Ecklonia maxima* y *amyloliquefaciens* cepa R6-CDX® exclusiva de COMPO EXPERT.

Vitanica® RZ actúa tanto por vía foliar como radicular reforzando el crecimiento radicular y el establecimiento de los cultivos, reduciendo el estrés postrasplante gracias a la combinación de los efectos bioestimulante de *Ecklonia maxima* con el efecto competencia de *Bacillus* con patógenos fúngicos, por lo tanto, limitando el desarrollo de hongos.

Bacillus amyloliquefaciens es una bacteria gram positiva que prolifera y ocupa sustrato, disminuyendo el impacto de enfermedades fúngicas, principalmente las de suelo.

PROPIEDADES Y VENTAJAS

Vitanica® RZ permite un mejor desarrollo radicular por efecto estimulante de los componentes orgánicos de origen natural del producto. Además de la aportación de Nitrógeno y potasio en la fórmula, la acción específica de la cepa R6-CDX® *Bacillus amyloliquefaciens*, permite disponer de fósforo y microelementos en la rizosfera, alcanzando un óptimo desarrollo de la planta. Vitanica® RZ está especialmente indicado para cultivos hortícolas y frutales.

RECOMENDACIONES DE USO

Cultivo	Dosis/apl. L/ha Foliar	Dosis/apl. L/Ha Fertirriego	Nº Apl. Foliar	Nº Apl. Fertirriego	Observaciones
Hortalizas	4 - 6	10-12	3 a 4	2 a 3	Fertirriego: Primera aplicación 15 a 20 días posterior al trasplante. Repetir cada 20 días Foliar: Primera aplicación 25 a 30 días postrasplante, en cultivos de fruto, repetir en floración y crecimiento de frutos cada 15 a 20 días durante el ciclo. En hortalizas de hoja, aplicar cada 15 a 20 días durante el ciclo del cultivo.
Trasplante de Hortalizas					Realizar Inmersión o drench de plantines al 2,5%. (Inoculación de raíz)
Berries	3,5 - 4,5	12-15	3 a 4	1 a 2	Fertirriego: aplicar después del trasplante cada 20 días. Foliar: durante el desarrollo vegetativo y del fruto, cada 10-15 días.
Nogales	--	15-20	0	2 a 3	Inmersión de raíces: Realizar solución al 2,5% y sumergir las plantas previo a la plantación Hoyo de plantación (replantes): Realizar solución al 2,5% y aplicar volumen suficiente para mojar el hoyo de plantación Fertirriego (plantaciones adultas y nuevas): aplicar previo a los flash de crecimiento radicular en primavera (octubre -noviembre) y repetir inicio de endurecimiento de la nuez (Diciembre-enero). En caso de suelos susceptibles a la enfermedad, realizar una tercera aplicación en el flash de crecimiento de raíces en Febrero-Marzo. Se recomienda aplicar en forma parcializada los 15-20 l/ha. Distribuyendo semanalmente la aplicación en 2 parcialidades hasta completar dosis del mes. IMPORTANTE DEJAR INCORPORADO DONDE ESTA AL MAXIMO DE RAICES DEL CULTIVO.
Paltos	5	15 - 20	2	2-3	Foliar, aplicar en panícula floral expuesta (estado colflor) y repetir en Full flor. Via riego: aplicar previo a los flash de crecimiento radicular en primavera parcializando los 15 L/ha. en 2 a 3 aplicaciones. Repetir en febrero de la misma forma.
Frutales Hoja Caduca y CEREZOS.	4,5 - 6	15-20	3 a 4	2 a 3	Foliar: Como bioestimulante inductor de Sistema de Resistencia Inducido (SIR) y prevención de enfermedades de pre y postcosecha, aplicar en floración y previo a cosecha. Utilizar volúmenes de aplicación de 1500 a 1800 L/ha, con el fin de lograr un buen cubrimiento y distribución. Bajo condiciones climáticas de lluvias de primavera y alta humedad relativa, utilizar la dosis mayor (6L/ha). Fertirriego: aplicar desde inicio de crecimiento radical y repetir cada 15 a 30 días. Una tercera en flash de crecimiento de otoño.
Frutales hoja persistente	6 - 7	15-20	3 a 4	2 a 3	Fertirriego: aplicar desde inicio de crecimiento radical y repetir cada 15 a 30 días. Una tercera en flash de crecimiento de otoño. Foliar: aplicar a partir de fruto cuajado cada 7 a 14 días

Cultivo	Dosis/apl. L/ha Foliar	Dosis/apl. L/ha Fertirriego	Nº Apl. Foliar	Nº Apl. Fertirriego	Observaciones
Uva de mesa	5 - 6	10-15	3 a 4	2 a 3	Foliar: Como bioestimulante inductor de Sistema de Resistencia Inducido (SIR) y prevención de enfermedades de pre y postcosecha, aplicar a partir de plena flor y desde cierre de racimo, pinta e incluso hasta el día de cosecha si es requerido en un programa integrado con fungicidas frontales. Utilizar volúmenes de aplicación de agua suficientes que permita una buena cobertura de follaje y racimos (1000 a 1200 L/ha en función del equipo de aplicación). Foliar uva de mesa: Aplicación inicial en plena flor, repetir al 20-30% de pinta y finalizar con la última aplicación de agua que se realice (incluso previo a cosecha). No mezclar con Cobre. En plantaciones hacer Inmersión de raíces: Realizar solución al 2,5% y sumergir las plantas. NO MEZCLAR CON CLORO -COBRE O BACTERICIDAS. En hoyo de plantación (replantes): Realizar solución al 2,5% y aplicar volumen suficiente para mojar el todo el hoyo de plantación.
Uva vinifera	4 - 6	10-15	3 a 4	2 a 3	Foliar: Como bioestimulante inductor de Sistema de Resistencia Inducido (SIR) y prevención de enfermedades de pre y postcosecha, aplicar a partir de plena flor y desde cierre de racimo, pinta e incluso hasta el día de cosecha si es requerido en un programa integrado con fungicidas frontales. Utilizar volúmenes de aplicación de agua suficientes que permita una buena cobertura de follaje y racimos. No mezclar con Cobre. En plantaciones hacer Inmersión de raíces: Realizar solución al 2,5% y sumergir las plantas.
Plantación en frutales					Inoculación de raíces: Realizar riego de la solución a la maceta o bolsa contenedora previa a la plantación, en caso de raíz desnuda, sumergir por 5 minutos completamente la raíz.

NO MEZCLAR CON CLORO-COBRE O BACTERICIDAS.

En hoyo de plantación (replantes): Realizar solución al 3% y aplicar volumen suficiente para mojar el todo el hoyo de plantación.

PRECAUCIONES

Vitanica® RZ es un producto ecológico y biodegradable, no tiene restricciones de carencia.

Vitanica® RZ es considerado no tóxico para las plantas ni animals. Por lo tanto para el manejo del producto es necesario atenerse a las precauciones de uso de los productos fitosanitarios con los cuales ha sido mezclado Vitanica® RZ.

Vitanica® es marca registrada de COMPO EXPERT.