



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agronòmica i  
del Medi Natural

Efectes de bioestimulants a base daminoàcids i altres  
compostos nitrogenats en el cultiu de la fresa.

Treball Fi de Màster

Màster Universitari en Enginyeria Agronòmica

AUTOR/A: Sabater Llorens, Vicent

Tutor/a: Verdeguer Sancho, Mercedes María

Cotutor/a: Boscaiu Neagu, Mónica Tereza

CURS ACADÈMIC: 2022/2023

## Efectes de bioestimulants a base d'aminoàcids i altres compostos nitrogenats en el cultiu de la fresa.

### **Resum**

Al llarg de la història humana, l'agricultura ha anat evolucionant per poder alimentar a un nombre creixent de la població, per aconseguir açò, ha estat clau la fertilització dels cultius. Actualment, l'agricultura continua amb el mateix desafiament, però, sent necessari fer-ho des de un punt mediambientalment respectuós, ja que fins ara no es tenia en compte aspectes com la contaminació de sòls i aigües o l'emissió de gasos d'efecte hivernacle. Igualment, s'ha de tindre en compte aspectes del canvi climàtic com la menor disponibilitat de recursos naturals o l'augment de la temperatura. Així doncs, és molt important plantejar estratègies alternatives de fertilització diferents a les convencionals. Una de les vies en expansió i amb gran importància és l'ús de bioestimulants. Aquests són substàncies o microorganismes que s'apliquen als cultius, no perjudicials per a l'entorn i, milloren l'eficiència nutricional, la tolerància a l'estrès abiòtic i/o els trets de qualitat del cultiu, independentment del seu contingut de nutrients.

Existeixen molts tipus de bioestimulants en el mercat, no obstant, hi ha un consens per classificar-los en un total de set tipus: àcids húmics i fúlvics, hidrolitzat de proteïnes i altres compostos nitrogenats, extractes d'algues i productes botànics, quitosà i altres biopolímers, compostos inorgànics, fongs beneficiosos i, per últim, bacteries fixadores de nitrogen. Aquest estudi, s'enfoca en els bioestimulants a base d'hidrolitzats de proteïnes i altres compostos nitrogenats.

En aquest treball s'han estudiat els efectes que produeixen tres bioestimulants: Sweetsei, Seimet i D22. Sweetsei és un bioestimulant compost per aminoàcids, nitrògen, fòsfor i potassi, Seimet és un derivat de l'anterior, compost principal per l'aminoàcid metionina, i D22 és un producte en desenvolupament compost per N,N'-diformilurea. L'estudi s'ha realitzat amb el cultiu de fresa (var. Camarosa), en condicions d'hivernacle i amb diferents nivells d'humitat del substrat. Al llarg del treball es mesuraren paràmetres de forma setmanal com són la humitat del substrat, el nombre de fulles per planta, longitud i àrea de una fulla seleccionada representativa de cada planta, el nombre de flors i fruits presents per planta i, el nombre d'estolons per planta. També, quan els fruits es trobaven en el moment òptim de recol·lecció, s'anotava nombre de fruits recol·lectats, així com el seu pes, longitud i amplària. A més, a final de l'experiment, també es mesuraren els pesos frescos i secs de les fulles, estolons i arrels, la longitud total de les fulles, estolons i arrels i, contingut hídic de les fulles, estolons i arrels. Tots aquests paràmetres s'estudiaren en funció de tres factors: la humitat en el substrat o estrès hídic, l'acció dels bioestimulants i la interacció entre la humitat en el substrat i els bioestimulants. Els resultats obtinguts mostren, en general, que l'aplicació de cap dels bioestimulants no suposa una millora de la productivitat, tant amb estrès hídic com en condicions normals de reg. No obstant, sí s'observa una certa millora del bioestimulant Seimet per als pes en fresc i sec de les fulles, quan el cultiu es troba a nivells d'humitat del substrat del 70%. També s'ha conclòs que, per a tots els

paràmetres estudiats, l'estrés hídric és un factor limitant en el desenvolupament de les plantes de fresa i del seu fruit.

Aquest treball es troba altament relacionat amb els Objectius de Desenvolupament Sostenible (ODS) 12 “Producció i consum responsables” i 13 “Acció pel clima”, ja que l'ús de bioestimulants pot ajudar a millorar l'ús dels recursos naturals i, augmentar la resiliència i adaptació dels cultius al canvi climàtic.

**Paraules clau:** bioestimulants; aminoàcids; productes naturals; millora de cultius; desenvolupament de cultius; protecció de cultius.

**Autor:** Sabater Llorens, Vicent

**Tutor acadèmic:** Verdeguer Sancho, Mercedes María

**Cotutora:** Boscaiu Neagu ,Monica Tereza

**Tutora externa:** Muñoz Usero, Marta

**Directora experimental:** Torres Pagan, Natalia

**Data:** 14 de Juliol de 2023

## Efectos de bioestimulantes a base de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados en el cultivo de la fresa.

### **Resumen**

A lo largo de la historia humana, la agricultura ha ido evolucionando para poder alimentar a un número creciente de la población, para conseguir esto, ha sido clave la fertilización de los cultivos. Actualmente, la agricultura continúa con el mismo desafío, sin embargo, siendo necesario hacerlo desde un punto medioambientalmente respetuoso, puesto que hasta ahora no se tenía en cuenta aspectos como la contaminación de suelos y aguas o la emisión de gases de efecto invernadero. Igualmente, deben tenerse en cuenta aspectos del cambio climático como la menor disponibilidad de recursos naturales o el aumento de la temperatura. Así pues, es muy importante plantear estrategias alternativas de fertilización distintas a las convencionales. Una de las vías en expansión y de gran importancia es el uso de bioestimulantes. Estos son sustancias o microorganismos que se aplican a los cultivos, no perjudiciales para el entorno y, mejoran la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés abiótico y/o los rasgos de calidad del cultivo, independientemente de su contenido de nutrientes.

Existen muchos tipos de bioestimulantes en el mercado, sin embargo, existe un consenso para clasificarlos en un total de siete tipos: ácidos húmicos y fúlvicos, hidrolizado de proteínas y otros compuestos nitrogenados, extractos de algas y productos botánicos, quitosano y otros biopolímeros, compuestos inorgánicos, hongos beneficiosos y, por último, bacterias fijadoras de nitrógeno. Este estudio se enfoca en los bioestimulantes a base de hidrolizados de proteínas y otros compuestos nitrogenados.

En este trabajo se han estudiado los efectos que producen tres bioestimulantes: Sweetsei, Seimet y D22. Sweetsei es un bioestimulante compuesto por aminoácidos, nitrógeno, fósforo y potasio, Seimet es un derivado del anterior, compuesto principal por el aminoácido metionina, y D22 es un producto en desarrollo compuesto por N,N'-diformilurea. El estudio se ha realizado con un cultivar de fresa (var. Camarosa), en condiciones de invernadero y con diferentes niveles de humedad del sustrato. A lo largo del trabajo se midieron parámetros de forma semanal como son la humedad del sustrato, el número de hojas por planta, longitud y área de una hoja seleccionada representativa de cada planta, el número de flores y frutos presentes por planta y, el número de estolones por planta. También, cuando los frutos se hallaban en el momento óptimo de recolección, se anotaba número de frutos recolectados, así como su peso, longitud y anchura. Además, al final del experimento, también se midieron los pesos frescos y secos de las hojas, estolones y raíces, la longitud total de las hojas, estolones y raíces y, contenido hídrico de las hojas, estolones y raíces. Todos estos parámetros se estudiaron en función de tres factores: la humedad en el sustrato o estrés hídrico, la acción de los bioestimulantes y la interacción entre la humedad en el sustrato y los bioestimulantes. Los resultados obtenidos muestran, en general, que la aplicación de ninguno de los bioestimulantes supone una mejora de la productividad, tanto con estrés hídrico como en condiciones normales de riego. Sin embargo, sí se observa un cierto efecto de mejora del bioestimulante Seimet para el peso en fresco y seco de las

hojas, cuando el cultivo se encuentra a niveles de humedad del sustrato del 70%. También se ha concluido que, para todos los parámetros estudiados, el estrés hídrico es un factor limitante en el desarrollo vegetativo de las plantas y para la producción de frutos.

Este trabajo se encuentra altamente relacionado con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) 12 “Producción y consumo responsables” y 13 “Acción por el clima”, puesto que el uso de bioestimulantes puede ayudar a mejorar el uso de los recursos naturales y, aumentar la resiliencia y adaptación de los cultivos al cambio climático.

**Palabras clave:** bioestimulantes; aminoácidos; productos naturales; mejora de cultivos; desarrollo de cultivos; protección de cultivos.

**Autor:** Sabater Llorens, Vicent

**Tutor académico:** Verdeguer Sancho, Mercedes María

**Cotutora:** Boscaiu Neagu ,Monica Tereza

**Tutora externa:** Muñoz Usero, Marta

**Directora experimental:** Torres Pagan, Natalia

**Fecha:** 14 de Julio de 2023

## Effects of biostimulants based on amino acids and other nitrogen compounds on strawberry.

### **Abstract**

Throughout human history, agriculture has evolved to be able to feed a growing number of people, and to achieve this, crop fertilization has been essential. Today, agriculture still faces the same challenge, however, it is necessary to do it from an environmentally friendly point of view, since until now aspects such as soil and water pollution or the emission of greenhouse gases were not taken into account. Likewise, aspects of climate change such as the reduced availability of natural resources or the increase in temperature must also be taken into account. It is therefore very important to consider alternative fertilization strategies other than the conventional ones. One of the ways in expansion and of great importance is the use of biostimulants. These are substances or microorganisms applied to crops, which are not harmful to the environment and improve nutritional efficiency, tolerance to abiotic stress and/or crop quality traits, regardless of their nutrient content.

There are many types of biostimulants on the market, however, there is a consensus to classify them into a total of seven types: humic and fulvic acids, hydrolyzed proteins and other nitrogen compounds, algae extracts and botanicals, chitosan and other biopolymers, inorganic compounds, beneficial fungi and, finally, nitrogen-fixing bacteria. This study focuses on biostimulants based on protein hydrolysates and other nitrogen compounds.

In this work we have studied the effects produced by three biostimulants: Sweetsei, Seimet and D22. Sweetsei is a biostimulant composed of amino acids, nitrogen, phosphorus and potassium, Seimet is a derivative of the previous one, mainly composed of the amino acid methionine, and D22 is a product under development composed of N,N'-diformylurea. The study was performed on a strawberry cultivar (var. Camarosa), under greenhouse conditions and with different substrate moisture levels. Throughout the work, parameters such as substrate humidity, number of leaves per plant, length and area of a selected leaf representative of each plant, number of flowers and fruits produced by each plant, and number of stolons per plant were measured on a weekly basis. Also, when the fruits were at the optimum time for harvesting, the number of fruits harvested was noted, as well as their weight, length and width. In addition, at the end of the experiment, fresh and dry weights of leaves, stolons and roots, total length of leaves, stolons and roots, and water content of leaves, stolons and roots were also measured. All these parameters were studied as a function of three factors: substrate moisture or water stress, the action of biostimulants and the interaction between substrate moisture and biostimulants. The results obtained show, in general, that the application of none of the biostimulants leads to an improvement in productivity, both under water stress and under normal irrigation conditions. However, a certain improvement effect of the biostimulant Seimet was observed for fresh and dry weight of leaves, when the crop was at substrate moisture levels of 70%. It has also been concluded that, for all the parameters studied, water stress is a limiting factor in the development of the vegetative parts of the plants and their fruits.

This work is closely related to the Sustainable Development Goals (SDG) 12 "Responsible consumption and production" and 13 "Climate action", given that the use of biostimulants can help improve the use of natural resources and, increase the resilience and adaptation of crops to climate change.

**Key words:** biostimulants; amino acids; natural products; crop improvement; crop development; crop protection.

**Author:** Sabater Llorens, Vicent

**Academic tutor:** Verdeguer Sancho, Mercedes María

**Cotutor:** Boscaiu Neagu, Monica Tereza

**External tutor:** Muñoz Usero, Marta

**Experimental director:** Torres Pagan, Natalia

**Date:** 14th of July of 2023

# ÍNDEX

1.	INTRODUCCIÓ .....	1
1.1.	BIOESTIMULANTS: QUÈ SON? .....	2
1.2.	TIPUS DE BIOESTIMULANTS .....	2
1.2.1.	Àcids húmics i fúlvics .....	3
1.2.2.	Hidrolitzats de proteïnes i altres compostos que contenen nitrogen .....	3
1.2.3.	Extractes d'algues i productes botànics .....	4
1.2.4.	Quitosa i altres biopolímers .....	4
1.2.5.	Compostos inorgànics .....	5
1.2.6.	Fongs beneficiosos .....	6
1.2.7.	Bacteris beneficiosos .....	7
1.3.	EFFECTE DE L'ESTRÉS HÍDRIC .....	7
1.4.	CULTIU DE LA FRESA .....	8
2.	OBJECTIUS .....	9
2.1.	OBJECTIU PRINCIPAL .....	9
2.2.	OBJECTIUS ESPECÍFICS .....	9
3.	MATERIALS I MÈTODES .....	10
3.1.	MATERIAL VEGETAL .....	10
3.2.	CONDICIONS DE CREIXEMENT, APLICACIÓ DELS BIOESTIMULANTS I TRACTAMENTS D'ESTRÉS HÍDRIC .....	11
3.3.	ANÀLISIS ESTADÍSTIC .....	17
4.	RESULTATS I DISCUSSIÓ .....	18
4.1.	RESULTATS DE LA HUMITAT DEL SUBSTRAT .....	18
4.2.	EFFECTES DELS TRACTAMENT I ESTRÉS HÍDRIC SOBRE LES PLANTES .....	19
4.2.1.	Anàlisi de dos vies del conjunt dels paràmetres analitzats ..	19
4.2.2.	Resultats dels paràmetres sobre les fulles .....	21
4.2.3.	Resultats dels paràmetres sobre els estolons .....	25
4.2.4.	Resultats dels paràmetres sobre la part radicular .....	28
4.2.5.	Resultats dels paràmetres sobre els fruits .....	30
4.3.	RESULTATS FINALS .....	32
4.4.	DISCUSSIÓ .....	33
5.	CONCLUSIONS .....	34
	BIBLIOGRAFIA .....	35



## **ÍNDIX DE TAULES**

Taula 1. Tractaments realitzats durant l'experiment. ....	13
Taula 2. Paràmetres mesurats al llarg de l'assaig .....	16
Taula 3. Dies en els que es mesuraren els paràmetres de seguiment de l'assaig .....	17
Taula 4: Resultats del ANOVA dels factors tractament i nivell hídric del substrat, i la seva interacció. ....	19

## **ÍNDIX DE FIGURES**

Figura 1. Inici de l'assaig. (A) Plantes aclimatant-se a l'ambient d'estudi. (B) Distribució dels tests en les safates per millorar el maneig. ....	10
Figura 2. (A) Aplicació del tractament de bioestimulants al cultiu. (B) Mesura de la humitat del substrat dels tests. ....	14
Figura 3. (A) Disposició de les fulles per fer la mesura de l'àrea foliar. (B) Disposició de les plantes per mesurar la longitud d'arrel i fulles. ....	15
Figura 4. Mesura del tamany de les freses. (A) Longitud. (B) diàmetre... 15	
Figura 5. Evolució de la humitat del substrat (%) per a cada tractament al llarg de l'assaig durant els mesos de maig fins a juliol de 2022. ....	18
Figura 6. Evolució dels paràmetres mesurats en fulles al llarg de l'assaig durant els mesos de maig a agost de 2022 per a cada un dels supostos treballats. Els paràmetres son: (A) nombre de fulles, (B) àrea mitja de les fulles i (C) longitud mitja de les fulles. ....	22
Figura 7. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) el nombre de fulles per planta, (B) àrea foliar i (C) longitud mitja de fulla, al finalitzar l'assaig. ....	23
Figura 8. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) el pes fresc de les fulles, (B) el pes sec de les fulles i (C) el contingut hídric de les fulles, al finalitzar l'assaig. ....	24
Figura 9. Evolució del nombre d'estolons totals per supost llarg de l'assaig durant els mesos de maig a agost de 2022. ....	26
Figura 10. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) la longitud mitja dels estolons, (B) el pes fresc dels estolons, (C) el pes sec dels estolons i (D) el contingut hídric dels estolons, al finalitzar l'assaig. ....	27
Figura 11. (A) Planta sense estrés hídric. (B) Planta amb estrés hídric... 28	
Figura 12. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) la longitud mitja de les arrels, (B) el pes fresc de les arrels, (C) el pes sec de les arrels i (D) el contingut hídric de les arrels, al finalitzar l'assaig. ....	29
Figura 13. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) el nombre total de fruits recol·lectats, (B) el pes mig dels fruits recol·lectats, (C) el diàmetre mig dels fruits recol·lectats i (D) l'altura mitja dels fruits recol·lectats, al finalitzar l'assaig. ....	31

# 1. INTRODUCCIÓ

Al llarg de la història de l'agricultura, la fertilització ha estat un pilar fonamental per al seu desenvolupament. Encara que l'agricultura va començar fa més de 10.000 anys, l'aparició de la fertilització dels sòls es va produir 2.000 anys més tard, mitjançant l'aplicació de fem a les terres de conreu (Batler, 2013). Aquest tipus d'adob es va continuar utilitzant al llarg del temps per totes les grans civilitzacions, arribant a una situació insostenible al segle XIX amb l'extracció per part d'Europa i els Estats Units de "guano" procedent de Llatinoamèrica. En aquest mateix segle, a la dècada de 1840, John Lawes va descobrir el primer fertilitzant artificial (Ceroni, 2012). Més tard, a principis del segle XX, Fritz Haber va descobrir com extreure nitrogen mitjançant la síntesi d'amoni, a partir d'aquest punt, l'ús de fertilitzants químics en el primer món s'ha expandit de manera exponencial fins a arribar a un punt en què l'agricultura es torna totalment dependent d'aquests inputs, sobretot després de l'anomenada "Revolució Verda" (Pazos et al., 2016).

El descobriment dels fertilitzants químics ha permès a la humanitat expandir-se còmodament fins a l'actualitat; no obstant això, ha tingut un cost social i ambiental, ja que el seu abús ha generat una gran contaminació del planeta en termes de sòls i aigües, intoxicacions alimentàries, emissions de gasos d'efecte hivernacle, entre d'altres (Escalante, 2020). A causa d'aquests efectes devastadors i de la dependència de l'agricultura d'aquests fertilitzants, en les últimes dècades, el camp dels bioestimulants ha guanyat importància en la indústria agrícola i s'ha posicionat com una de les estratègies amb més futur per millorar la producció dels cultius i la seva resiliència davant el canvi climàtic. A més, aquests productes podrien millorar l'agricultura en un món on cada vegada hi ha més restriccions en l'ús de fitosanitaris i fertilitzants sintètics, ja que els nostres cultius s'enfronten a condicions més difícils a causa de l'escalfament global, així com a la disminució de les terres de conreu disponibles, l'aigua i la qualitat del sòl (FAO, 2009).

Aquest canvi de paradigma en el camp de la fertilització es visualitza en les noves tendències a l'hora de legislar a nivell europeu i nacional, on cada vegada hi ha més restriccions en l'ús de productes químics de síntesi. A més, segons les dades del mercat, s'estima que el valor del sector mundial dels bioestimulants en 2021 estava al voltant dels 3.600 milions de dòlars, i es preveu que experimenti un creixement anual del 12% entre 2021 i 2027 (García, 2022).

D'aquesta manera, amb aquesta nova tendència, els bioestimulants han anat guanyant importància a nivell europeu i mundial. S'observa que a partir de l'any 1997, la definició de bioestimulants ha anat canviant contínuament fins a la definició adoptada en el reglament de la UE 2019/1009, on s'hi defineix com a un tipus de producte fertilitzant amb 6 categories diferents. Una altra evidència de la importància actual dels bioestimulants és que, des de 2009 fins a 2019, s'han publicat més de 700 articles científics que demostren l'eficàcia de la seva aplicació en les plantes, millorant les seves respostes

davant els estressos biòtics i abiòtics als quals es veuen sotmeses contínuament. Per exemple, s'ha estudiat l'aplicació en *Arabidopsis thaliana* davant la sequera (Fleming et al., 2019), l'aplicació en blat de moro davant l'estrès salí (Rojas Tapias et al., 2012) o simplement per millorar la fertilització dels cultius (Ramos et al., 2013).

## **1.1. BIOESTIMULANTS: QUÈ SON?**

Amb l'evolució exponencial en el camp dels bioestimulants en les últimes dècades, en primer lloc es va crear una definició per part de Zhang i Schmidt (1997) com a "materials que, en quantitats diminutes, promouen el creixement de les plantes", amb la intenció de crear una clara diferència entre bioestimulants i fertilitzants.

El 2015, amb l'avanç d'aquest camp, du Jardin va modificar la definició proposada l'any 2012 i va detallar els bioestimulants com a "qualsevol substància o microorganisme que s'aplica a les plantes amb l'objectiu de millorar l'eficiència nutricional, la tolerància a l'estrès abiòtic i/o els trets de qualitat del cultiu, independentment del seu contingut de nutrients".

No obstant això, degut a la importància que van adquirir aquests productes i a la necessitat de crear un marc legislatiu, el 2019, en el reglament de la Unió Europea 2019/1009, apareix la següent definició: Un bioestimulant vegetal serà un producte fertilitzant de la UE la funció del qual és estimular els processos de nutrició de les plantes, independentment del contingut de nutrients del producte, amb l'únic objectiu de millorar una o més de les següents característiques de la planta o la rizosfera de la planta:

- i. Eficiència en l'ús de nutrients
- ii. Tolerància a l'estrès abiòtic
- iii. Trets de qualitat
- iv. Disponibilitat de nutrients confinats en el sòl o rizosfera.

## **1.2. TIPUS DE BIOESTIMULANTS**

Així, quan s'observa el camp dels bioestimulants, es comprova que hi ha un gran catàleg que hi abasta a un gran marc de substàncies o microorganismes, per això, hi existeix la necessitat de categoritzar-los. Pese a no haver una regulació sobre els tipus, ja que molts autors defenen que es deuen diferenciar per el que fan i no per el què contenen, de moment sí hi ha un cert consens entre científics, reguladors, productor i agricultors, la realitzada per du Jardin al 2015. Aquesta classificació es classifica en 7 apartats: àcids húmics i fúlvics, hidrolitzat de proteïnes i altres compostos nitrogenats, extractes d'algues i productes botànics, quitosà i altres biopolímers, compostos inorgànics, fongs beneficiosos i, per últim, bacteries fixadores de nitrogen.

### **1.2.1. Àcids húmics i fúlvics**

Les substàncies húmiques i fúlviques són els productes orgànics de biosíntesi més comunament distribuïts a la superfície del sòl. Es troben presents a causa de la descomposició dels residus d'éssers vius, així com també per la pròpia activitat dels microorganismes del sòl que utilitzen aquests substrats, constituint així més del 80% de la matèria orgànica de la terra.

Aquestes substàncies mostren dinàmiques complexes d'associació/dissociació en col·loides supramoleculars, amb una massa molecular, densitat de càrrega elèctrica i acidesa, fet que els permet realitzar reaccions d'interès agronòmic-productiu. És per això que han sigut utilitzades des de les antigues civilitzacions, per contribuir a la fertilitat del sòl millorant les seves propietats físiques, fisicoquímiques, químiques i biològiques.

Així doncs, la seva aplicació als cultius crea diversos efectes relacionats amb una millora en la nutrició de les arrels, a causa d'una major capacitat d'intercanvi catiònic, major disponibilitat de fòsfor, afluïxament de la paret cel·lular, major creixement cel·lular i creixement dels òrgans (Jindo et al., 2012), el que es tradueix com a un augment general del pes sec (Rose et al., 2014).

### **1.2.2. Hidrolitzats de proteïnes i altres compostos que contenen nitrogen**

Són el grup de bioestimulants que es produeixen per hidròlisi enzimàtica i/o química a partir de subproductes proteics provinents de la agroindústria, per tant, estan formats per aminoàcids i pèptids. També s'inclouen en aquesta categoria altres molècules nitrogenades com les betaïnes, poliamides i aminoàcids no proteics. Cal destacar que els continguts de proteïnes/pèptids i aminoàcids lliures i, el seu pes molecular, presenten una gran variació segons l'origen i el procés de producció, de manera que varia l'acció bioestimulant. D'altra banda, a més d'aminoàcids i pèptids, els productes hidrolitzats contenen altres compostos, com greixos, hidrats de carboni, fenols, elements minerals, fitohormones i altres compostos orgànics, que poden contribuir a l'acció bioestimulant (Colla et al., 2015a).

En aquest grup s'observen multitud d'accions sobre el cultiu, tant d'efecte directe com d'efecte indirecte. Entre aquests, es troba la millora en l'absorció i transport d'aminoàcids i pèptids per part de les plantes, efectes sobre el metabolisme primari de la planta i, efectes sobre el metabolisme secundari de les plantes (Colla et al., 2015a). Això és possible gràcies a la seva intervenció en l'absorció i assimilació del nitrogen (du Jardin, 2015), un efecte quelant de metalls pesats i alguns nutrients, millora del transport de micronutrients, l'eliminació de radicals lliures, augment de compostos fitoquímics, etc.

Per tant, els efectes de la seva aplicació sobre els cultius són diversos, creant així una agricultura més sostenible en millorar el creixement, eficiència de l'ús de recursos, tolerància a l'estrés ambiental i químic del sòl i, sobretot,

augmentant el rendiment i la qualitat en cultius agrícoles i hortícoles (Calvo et al., 2014).

### **1.2.3. Extractes d'algues i productes botànics**

En l'agricultura, aquesta classe de productes en format fresc (algues marines) s'han utilitzat des de l'antiguitat com a font de matèria orgànica, no obstant això, no ha sigut fins als últims anys en els quals s'ha provat l'efecte bioestimulant dels seus extractes. Així doncs, han estat comercialitzats des de l'any 1980 i actualment representen un terç del mercat de bioestimulants al món, ja que tenen una gran acceptació per ser ecològics, biodegradables, no tòxics i segurs tant per a humans com per a animals (Espinosa et al., 2020).

Existeixen aproximadament 10.000 macroalgues, classificades segons la seva pigmentació (pardes, roges i verdes). No obstant això, l'alga parda *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis és la més utilitzada (Espinosa et al., 2020). Entre els productes obtinguts s'inclouen els polisacàrids laminarina, alginats i carraguenines, productes de degradació, micro i macronutrients, esterols i compostos amb contingut nitrogenat com betaïnes i hormones. Tots aquests han estat corroborats per la comunitat científica quant a l'acció bioestimulant en la germinació de llavors, el vigor de plantes joves, el creixement i morfologia de la part radicular, la floració i el rendiment, així com en la maduració i qualitat nutricional del producte agrícola (Khan et al., 2009). També tenen efectes en l'activitat dels microorganismes beneficiosos de la rizosfera, la tolerància a condicions d'estrès (Calvo et al., 2014) i la protecció contra plagues i malalties. Aquestes últimes accions han guanyat importància en els últims anys a causa de la preocupació per l'efecte del canvi climàtic sobre els cultius i l'interès per explotar zones de cultiu en climes àrids i semiàrids.

D'altra banda, en quant als productes botànics, es descriuen com a substàncies extretes de plantes que s'utilitzen en productes farmacèutics i cosmètics, ingredients alimentaris i també en productes fitosanitaris. Es coneix molt menys del seu efecte bioestimulant sobre les plantes, i la investigació està principalment centrada en les seves propietats com a fitosanitaris. No obstant això, hi ha cert interès en la utilització de compostos en el camp de l'al·lelopatia, ja que aquestes substàncies actives intervenen en les interaccions entre plantes.

### **1.2.4. Quitosà i altres biopolímers**

El quitosà és un biopolímer producte de la desacetilació de la quitina, que es produeix tant de forma natural com industrial. S'obté com a component de les parets cel·lulars dels fongs, exoesquelets d'insectes i closques de crustacis. Aquest polisacàrid compta amb la capacitat de unir-se a una gran quantitat de components cel·lulars, com ara l'ADN, la membrana plasmàtica i altres constituents de la paret cel·lular. Igualment, pot unir-se a certs receptors involucrats en l'activació de gens de defensa, de la mateixa manera que les molècules senyalitzadores (El Hadrami et al., 2010).

L'aplicació del quitosà als cultius s'ha estudiat àmpliament en moltes espècies, comprovant-se que les respostes agronòmiques dels cultius depenen molt de la composició química del quitosà, del moment i de la taxa d'aplicació. Aquesta molècula estimula diverses respostes en les plantes, entre les quals es troben la resistència a malalties i estrès abiòtic, la millora del creixement i del rendiment del cultiu, l'augment de la vida útil dels òrgans de reproducció, així com l'activació de la producció de metabòlits secundaris (Pichyankura i Chadchawan, 2015).

La unió del quitosà als receptors cel·lulars provoca l'acumulació de peròxid d'hidrogen i la fuga de  $\text{Ca}^{2+}$  cap a l'interior de la cèl·lula, fets clau en la senyalització de respostes d'estrès i en la regulació del desenvolupament (du Jardin, 2015), com ara el tancament d'estomes, que redueix el consum d'aigua per part de la planta. A més, el sistema de defensa s'activa a través de la via de l'òxid nítric, la inducció de l'acumulació d'espècies reactives d'oxigen, la inducció dels enzims glucanasa i quitinasa, etc. (Pichyangkura i Chadchawan, 2015).

D'altra banda, cada vegada s'utilitzen més diversos poli i oligòmers d'origen biològic i sintètic com a elicitors de defensa, els quals desencadenen respostes similars a l'aplicació del quitosà.

### **1.2.5. Compostos inorgànics**

També anomenats com a elements beneficiosos, són elements químics que promouen el creixement de les plantes i que poden ser beneficiosos per a certs taxons, però sense ser necessaris per a tots els vegetals. En aquest grup es troben els elements alumini (Al), cobalt (Co), sodi (Na), seleni (Se) i silici (Si), els quals es troben en forma de sals inorgàniques i formes insolubles, tant als sòls com a les pròpies plantes.

Segons consta en du Jardin (2015), la definició d'aquest grup no sols es limita a la seva naturalesa, sinó que també s'han de tenir en compte els seus efectes positius sobre els cultius. Entre aquests efectes es troba la promoció del creixement de les plantes, un augment de la qualitat dels productes vegetals i la tolerància a l'estrès abiòtic. Això és conseqüència de l'acció sobre les plantes a nivell intern, ja que l'aplicació dels anomenats compostos inorgànics condueix a una major rigidesa de la paret cel·lular, una millor osmoregulació, una reducció de la transpiració, un efecte de regulació tèrmica, una millora de l'activitat enzimàtica, una millora de la nutrició de les plantes, una protecció antioxidant, una millora de les interaccions amb simbionts, patògens i herbívors, una protecció contra els metalls pesats i una intervenció en la síntesi i senyalització d'hormones vegetals (Pilon-Smits et al., 2009).

A més, les sals inorgàniques d'elements beneficiosos i essencials s'han utilitzat com a fungicides, a causa de la seva influència en l'homeòstasi osmòtica, en el pH i en el redox, en la senyalització hormonal i en els enzims implicats en la resposta a l'estrès.

### 1.2.6. Fongs beneficiosos

Els fongs beneficiosos són un grup important a l'hora de parlar sobre el maneig sostenible del sòl en l'agricultura. Aquest grup es basa en la interacció existent entre les arrels de les plantes i els fongs del sòl, que varia des de la simbiosi mutualista fins al parasitisme.

Aquest grup és molt heterogeni en quant als taxons que estableixen simbiosi amb més del 90% de les espècies vegetals (du Jardin, 2015), aportant múltiples funcions com una major eficiència en l'aprofitament de la zona radical, un augment del volum de sòl explorat, una major resistència a toxines, un increment en la translocació i solubilització de nutrients, una major tolerància a l'estrès abiòtic i una protecció contra patògens radicals (Toledo i Ravelo, 2010). Entre els més importants es troben les micorrizes formadores d'arbuscles, ja que les hifes fúngiques de *Glomeromycota* penetren en les cèl·lules corticals de les arrels i formen les estructures capaces de captar nutrients com el fòsfor, sofre, nitrogen i altres micronutrients.

Cal mencionar que hi ha investigacions que han descobert que les xarxes de hifes són capaces d'interconnectar tota una comunitat de plantes, gràcies a la capacitat dels conductes fúngics de permetre la senyalització entre individus vegetals; d'aquesta manera, agafen importància en la seva implicació ecològica i agrícola (Simard et al., 2012). D'altra banda, també hi ha investigacions dirigides a les associacions tripartides plantes-fongs-rizobacteris, les quals poden ser molt interessants en la pràctica de camp (Siddiqui et al., 2008).

A més dels diferents tipus de micorrizes, hi ha altres tipus de fongs endofítics que poden ser utilitzats com a bioestimulants i que són capaços de passar, almenys en part del seu cicle, lluny de la planta amfitriona, colonitzar arrels i transferir nutrients als amfitrions. Es tracta de fongs pertanyents a la família Sebacinaceae i al gènere *Trichoderma* spp. Aquests últims van ser descoberts al segle XVIII i han estat àmpliament estudiats per la seva capacitat bioplaguicida i de biocontrol, aconseguint evidències contundents que en moltes plantes indueixen respostes de major tolerància a l'estrès abiòtic, una major eficàcia dels nutrients i un creixement i morfogènesi dels òrgans (Colla et al., 2015b). Cal mencionar que aquest gènere es basa en tres modes nutricionals (sapròfit, micotròfia i dependència dels sucres derivats de les plantes), el que els permet colonitzar l'espai radical eliminant i impedit que altres fongs maliciosos afecten el cultiu i assegurant la seva permanència durant un llarg període de temps. A més, milloren la disponibilitat i el creixement dels pèls absorbents de les plantes, fet que es tradueix en una millora de la sostenibilitat i el creixement del cultiu (López et al., 2015).

### 1.2.7. Bacteris beneficiosos

En aquest grup existeix un gran nombre de possibilitats a causa de la gran diversitat de bacteris i la multitud d'interaccions que poden tenir amb l'ambient agronòmic.

Així doncs, des d'un punt de vista agrícola, es poden observar dos subgrups principals, considerant tota la diversitat taxonòmica, funcional i ecològica (du Jardin, 2015): els endosimbionts mutualistes del tipus *Rhizobium* i les rizobactèries promotores del creixement de les plantes o PGPRs (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Els bacteris gramnegatius del gènere *Rhizobium* han estat àmpliament estudiats per la comunitat científica, revisant i ratificant el seu paper com a fixadors del nitrogen atmosfèric. D'altra banda, les PGPR colonitzen les arrels de les plantes, promocionant així el seu creixement i/o reduint les malalties causades per patògens (Sarabia et al., 2010). Aquest subgrup de microorganismes presenta una faceta més multifuncional, ja que influeixen en més aspectes de la vida vegetal, com ara la nutrició i el creixement, la morfogènesi i el desenvolupament, la resposta a l'estrès biòtic i abiòtic, les interaccions amb altres organismes, etc. (Babalola, 2010; Vacheron et al., 2013).

## 1.3. EFECTE DE L'ESTRÉS HÍDRIC

L'estrès per dèficit hídric es produeix en els cultius com a resposta a un ambient poc humit, on la taxa de reposició hídrica és negativa, és a dir, la transpiració de la planta excedeix l'absorció d'aigua. Aquesta situació es pot presentar en diferents escenaris, com a resultat de baixes precipitacions, baixa capacitat del sòl per retenir aigua, excessiva salinitat, temperatures baixes o altes extremes, baixa pressió de vapor atmosfèrica o una combinació d'aquests factors (Nilsen i Orcutt, 1996).

Actualment, una tercera part de la superfície del planeta es considera àrida o semiàrida, mentre que la resta de la superfície es troba sotmesa a períodes temporals de dèficit hídric. El canvi climàtic propicia diverses de les situacions abans mencionades, per tant, cal pensar que en un futur pròxim el nombre de regions del planeta propenses a experimentar grans episodis d'estrès hídric augmentarà, fet que condiciona el món agronòmic a adaptar-se a aquestes condicions (Shanker et al., 2014).

Així doncs, l'aigua constitueix el principal factor limitant per al creixement de les plantes, ja que produeix canvis fisiològics i bioquímics en els diferents òrgans. Aquests canvis comporten, entre altres, una reducció de l'assimilació del carboni, afectant la distribució de fotoassimilats, que alhora afecta el creixement vegetatiu i el desenvolupament dels òrgans reproductius (Signer et al., 2003).



## 1.4. CULTIU DE LA FRESA

La paraula fresa és la comunament utilitzada per a denominar l'espècie *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, una espècie octoplòide pertanyent a la família *Rosaceae*, que és el resultat de la hibridació entre les espècies octoplòides americanes *Fragaria virginiana* Mill. i *Fragaria chiloensis* (L.) Mill.

Aquesta espècie és una planta vivàcia, que es reproduïx vegetativament a través d'estolons, aquests són talls postrats originats a partir de les gemmes axil·lars de la corona de les fulles; són de entrenusos llargs, en els quals, a partir del segon, es forma una roseta de fulles i arrels adventícies, que al mateix temps es poden ramificar. Les fulles, amb tres folíols serrats, tenen un pecíol llarg, pubescent i engrossit en la base que les uneix al tall; la seva disposició es atapeïdamment en 1/5 d'espiral de la corona, col·locant-se la sisena fulla just per damunt de la primera. Les inflorescències apareixen en forma de cim, generalment en parells, amb les flors jerarquitzades (López, 2017). Actualment, aquestes plantes es cultiven durant tot l'any gràcies als hivernacles, no obstant això, l'època habitual de recol·lecció és des de principis de la primavera fins a juny, segons la varietat.

La varietat utilitzada en aquest treball és la denominada Camarosa, que actualment és la més cultivada a nivell mundial. Aquesta àmplia utilització es deu a la seva bona adaptació a diferents climes, tant a regions subtropicals com a regions mediterrànies temperades. A més, la varietat Camarosa es caracteritza per ser molt primerenca (amb un cicle de fructificació de 7 mesos), molt productiva i proporciona una gran qualitat als fruits, que tenen mides entre 28 i 30 mm, forma cònica i color vermell intens (Eurosemillas, 2023).

La fresa és molt apreciada pel seu fruit, botànicament anomenat infructescència, el qual té una gran demanda per la seva possibilitat de consum en fresc amb un mínim de processat. És conegut per les seves grans qualitats organolèptiques, tant en dolçor com en aroma, i pel seu baix contingut calòric, així com el seu alt contingut en fibra, vitamina C, antioxidants, potassi, àcid fòlic i minerals (Osorio, 2008).

## **2. OBJECTIUS**

### **2.1. OBJECTIU PRINCIPAL**

Aquest treball se centra en estudiar si l'ús de bioestimulants basats en hidrolitzats de proteïnes i altres compostos que contenen nitrogen augmenta el rendiment del cultiu de freses i, si l'aplicació d'aquests productes ajuda a adaptar el cultiu a condicions d'estrès hídric.

### **2.2. OBJECTIUS ESPECÍFICS**

Els objectius específics d'aquest treball son:

- Estudiar l'efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre les plantes en paràmetres mesurats de forma contínua, com ara el nombre, la longitud i l'àrea de una fulla representativa de la planta, el nombre de flors presents a les plantes, el nombre de fruits presents a la planta i el nombre d'estolons.
- Estudiar l'efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre les plantes en paràmetres mesurats al final de l'assaig, el pes, l'altura i el diàmetre dels fruits recol·lectats, el nombre final d'estolons per planta, el pes fresc de les fulles, els estolons i les arrels, el pes sec de les fulles, els estolons i les arrels, la longitud total de les fulles, els estolons i les arrels i, finalment, el contingut hídric de les fulles, els estolons i les arrels.

### 3. MATERIALS I MÈTODES

#### 3.1. MATERIAL VEGETAL

El cultiu utilitzat per realitzar l'assaig ha sigut el fresó comercial *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier varietat Camarosa. Les plantes van ser produïdes pel viver Planters Peris i entregades per Seipasa, una empresa espanyola líder en el desenvolupament i formulació de productes comercials d'origen botànic i microbiològic per a la protecció i bioestimulació de cultius hortofructícoles.

Les plantes van ser proporcionades amb 2 o 3 fulles verdes en safates de 24 alvèols. Immediatament després de la seva recepció a les instal·lacions dels hivernacles de la Universitat Politècnica de València, van ser trasplantades a tests de plàstic negre d'un volum de 2,5 litres (diàmetre 17 cm). Això va permetre un maneig fàcil i còmode de les plantes, evitant que la mida del contenidor fos un factor restrictiu per al correcte desenvolupament del cultiu i permetent una observació adequada del creixement i l'evolució de les plantes durant l'assaig. Pel substrat, es va utilitzar una mescla de turba (SuliFlor) i perlita expandida (PerlIndustria) en una proporció de 3:1. Aquests dos components es van mesclar i humitejar prèviament abans d'emplenar els recipients. Després es van omplir els tests amb la mescla, es va realitzar el trasplantament de les plantes i es van regar fins a superar la capacitat de retenció d'aigua del substrat, permetent que gotejaren. A més, es va realitzar una mesura de la capacitat de retenció d'aigua del substrat en un test separat per a càlculs posteriors d'estrès hídric, que s'explicaran més endavant.

Una setmana més tard, després d'un període d'adaptació a l'entorn dels hivernacles (Il·lustració 1A), es van seleccionar les 100 plantes més homogènies, dividint-les en grups de 10 de la manera més homogènia possible. Això va donar lloc a 10 grups de tractament, amb 10 repeticions de cada tractament. Cada grup es va dividir en safates de 54 x 39 cm amb capacitat per a 5 tests, en funció del maneig i els materials disponibles (Il·lustració 1B).

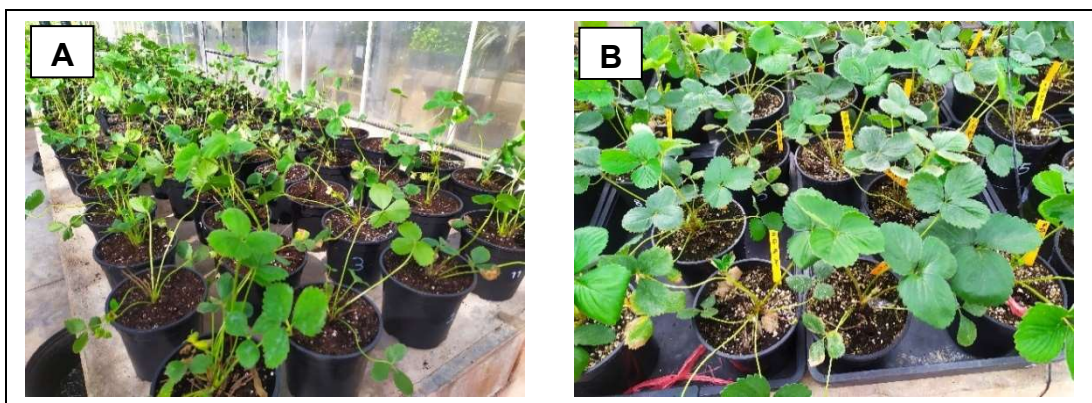


Figura 1. Inici de l'assaig. (A) Plantes aclimatant-se a l'ambient d'estudi. (B) Distribució dels tests en les safates per millorar el maneig.

### **3.2. CONDICIONS DE CREIXEMENT, APLICACIÓ DELS BIOESTIMULANTS I TRACTAMENTS D'ESTRÉS HÍDRIC**

En cada safata es distribuïren 5 plantes, és a dir, cada tractament estava format per 10 plantes de fresa dividides en dos grups de cinc, totes amb les mateixes condicions de temperatura, humitat i llum. No obstant això, a causa de l'orientació de l'hivernacle i la posició de la bancada on es trobaven les plantes, hi havia una petita diferència d'incidència de llum a certes hores del dia en certes zones de la bancada, per tant, es va decidir anar rotant de lloc les safates setmanalment perquè totes rebessin la mateixa quantitat de llum directa.

Per a un millor maneig i identificació en el procés d'experimentació i tractament de dades, tant les safates com els testos foren clarament etiquetats, identificant per a cada un el tipus de tractament aplicat i reconeixement de cada planta. Els diferents tractaments analitzats tractaven de la combinació d'unes reduccions de l'aigua de reg per crear diferents nivells d'estrés hídric en el cultiu i l'aplicació de quatre bioestimulants diferents, per tal d'observar les possibles millores i adaptació del cultiu als diferents nivells d'estrés. Així doncs, s'obtingueren 2 nivells d'humitat en el substrat de les plantes, sent aquestes al voltant dels valors del 70% i del 30%, el qual es tradueix en unes condicions sense estrés i unes amb un estrés mitjà o parcial, respectivament. Per assegurar la continuïtat dels nivells d'humitat en el substrat, abans de cada reg es realitzava una mesura cossiòl per cossiòl amb una sonda WET-2 Sensor de Delta T Devices, Cambridge, Regne Unit. Pel que fa a l'aigua necessària per aplicar a cada test, es feia en funció de l'estrés hídric que es volia mantenir per a cada tractament i segons les condicions ambientals. Així, es calculaven les necessitats hídriques mitjaneres per al cicle de cultiu per planta i s'aplicava el percentatge de reducció desitjat. Els regs es dividien el més uniformement possible al llarg de la setmana, realitzant-se aquests els dilluns, dimecres i divendres de cada una de les setmanes que durà l'assaig. La quantitat aplicada per planta fou de 100 mL per als tractaments que es volia un 30% d'humitat del substrat i de 300 mL per als tractaments que es volia un 70% d'humitat.

El treball s'ha realitzat amb dos bioestimulants experimentals i un comercial, comparant-los al mateix temps amb un tractament d'un producte de referència i, un control sense cap tractament. Un d'aquests és el producte comercial Sweetsei, produït i distribuït per l'empresa Seipasa (València, Espanya), dissenyat a base d'una matriu orgànica que integra els principals intermediaris bioquímics de les rutes metabòliques responsables de la maduració i coloració. Inicialment, s'ha creat per a induir i afavorir l'increment de sucres, la maduració i l'engrossiment dels fruits. Sweetsei està compost per 5,2% d'aminoàcids lliures (àcid aspàrtic 0,15%, àcid glutàmic 0,37%, alanina 0,09%, glicina 0,87%, histidina 0,01%, lisina 0,04%, metionina 2,21%, prolina 0,17%, serina 0,23%, tirosina 0,01%, treonina 0,95%, valina 0,07%), nitrogen 0,7%, fòsfor 4,2% i potassi 5,6%. D'altra banda, un altre bioestimulant utilitzat és el producte en desenvolupament anomenat Seimet, que és un

derivat de Sweetsei també produït per l'empresa Seipasa. Aquest bioestimulant està compost principalment per l'aminoàcid essencial metionina, una molècula la funció principal de la qual està involucrada en múltiples reaccions de defensa de la planta, com a intermediari del cicle de Yann i del cicle de l'etilè. El tercer bioestimulant, també en desenvolupament per part de l'empresa Seipasa, és l'anomenat D22, aquest és un compost basat en una nova molècula obtinguda a partir de la reacció d'àcid carboxílic amb urea, la N,N'-diformilurea. Segons la patent registrada en el document US6040273 (Dean, 2000), aquesta molècula és biològicament activa perquè presenta una similitud en la seva estructura esquelètica amb altres molècules biològiques com les citoquinines, uracils substituïts, metilguanina i similars, per tant, presenta la capacitat de millorar el creixement de plantes amb l'aplicació a llavors, sòl o fulles. Pel que fa al bioestimulant de referència, es tracta del producte Bioforge, produït per l'empresa Stoller International Inc. Aquest bioestimulant està compost per nitrogen 2%, potassi 3%, cobalt 0,002% i molibdè 0,0002%, i es troba formulat amb una molècula dissenyada per eliminar qualsevol tipus d'estrès, estimular el creixement de les plantes i disminuir els símptomes que causen algunes substàncies tòxiques, gràcies a la seva capacitat d'unir-se a receptors de l'etilè i desplaçar-lo fora de la cèl·lula, així com per la seva capacitat de reduir el metabolisme de l'etilè.

Així doncs, tenint en compte els dos nivells d'estrès hídric als quals s'han sotmès les plantes de fresa, l'aplicació del bioestimulant comercial, els dos experimentals i el de referència, tot l'assaig ha constatat de 8 tractaments. A més, cal tenir en compte els dos tractaments al 70% i 30% d'humitat al substrat per a les plantes control. Aleshores, s'ha treballat amb 10 tractaments, amb els quals s'ha pogut observar l'evolució i comparació de les plantes a diferents nivells d'estrès amb i sense estimulant, així com la comparació entre els diferents productes aplicats. De la mateixa manera que s'ha realitzat per a les plantes control, es van posar en safates els cossiols dels diferents tractaments amb bioestimulants. D'aquesta manera, hi havia dues safates amb 5 cossiols per a cada tractament: dos per als tractats amb Sweetsei i una humitat de substrat al 70%, dos per als tractats amb Seimet i una humitat de substrat al 70%, dos per als tractats amb D22 i una humitat de substrat al 70%, dos per als tractats amb Bioforge i una humitat de substrat al 70%, dos per als tractats amb Sweetsei i una humitat de substrat al 30%, dos per als tractats amb Seimet i una humitat de substrat al 30%, dos per als tractats amb D22 i una humitat de substrat al 30%, i dos per als tractats amb Bioforge i una humitat de substrat al 30%. Aquesta combinació d'aplicacions i nivells d'humitat ha donat un total de 10 tractaments amb 10 plantes per tractament, el que fa un total de 100 plantes per a tot l'assaig.

A continuació, es pot observar una taula resum amb tots els tractaments realitzats:

*Taula 1. Tractaments realitzats durant l'experiment.*

<b>Número</b>	<b>Nom del tractament</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Tipus de tractament</b>
1	Control al 70% de H.S.	C70	Sense estrés/sense bioestimulant
2	Referència al 70% de H.S.	R70	Sense estrés/amb bioestimulant Bioforge
3	Sweetsei al 70% de H.S.	Sw70	Sense estrés/amb bioestimulant Sweetsei
4	Seimet al 70% de H.S.	Se70	Sense estrés/amb bioestimulant Seimet
5	D22 al 70% de H.S.	D70	Sense estrés/ amb bioestimulant D22
6	Control al 30% de H.S.	C30	Estrés parcial/sense bioestimulant
7	Referència al 30% de H.S.	R30	Estrés parcial /amb bioestimulant Bioforge
8	Sweetsei al 30% de H.S.	Sw30	Estrés parcial/amb bioestimulant Sweetsei
9	Seimet al 30% de H.S.	Se30	Estrés parcial /amb bioestimulant Seimet
10	D22 al 30% de H.S.	D30	Estrés parcial /amb bioestimulant D22

*\*H.S.= humitat del substrat*

La dosi escollida per a aplicar de cada bioestimulant ha sigut recomanada pel fabricant a l'etiqueta del producte. En aquest cas, era la mateixa per als bioestimulants Seimet i Sweetsei, que les recomanava en 2 mL/L, i en el cas dels bioestimulants D22 i Bioforge també coincideixen, sent la dosi d'ambdós de 1 mL/L.

Com que es tracta de tractaments foliar, cal conèixer el volum de caldo a aplicar. Aquesta dada també ve donada pel fabricant, estipulant un màxim de 1000 L/ha. Per calcular la quantitat necessària a polvoritzar per a cada safata (5 plantes), és necessari tenir la dada de densitat de plantació. Per tant, s'ha utilitzat una densitat mitjana d'una plantació comercial de fresa, de 50.000 plantes/ha. Per saber la quantitat de caldo es va realitzar un càlcul senzill:

$$\text{Quantitat caldo a utilitzar} = \frac{1.000 \text{ L/ha}}{50.000 \text{ p/ha}} \times 5 \text{ plantes} = 0,1 \text{ L}$$

Igualment, per calcular la quantitat de bioestimulant a aplicar, el càlcul fou:

$$\text{Quantitat de bioestimulant a aplicar} = \text{Caldo utilitzat} * \text{dosi recomanada}$$

$$\text{Quantitat Sweetsei i Seimet} = 0,1L * \frac{1mL}{L} = 0,1mL$$

$$\text{Quantitat D22 i Bioforge} = 0,1L * \frac{2mL}{L} = 0,2mL$$

Les aplicacions es van realitzar tres vegades durant el cicle de cultiu, la primera vegada quan les plantes ja s'havien adaptat al medi de l'hivernacle (25/05/2022), la segona vegada dues setmanes després (08/06/2022), i finalment, la tercera vegada quatre setmanes després de la segona aplicació (15/07/2022) (Il·lustració 2A). La decisió de realitzar aquesta última aplicació es va prendre basant-se en criteris tècnics, tenint en compte l'onada de calor present en aquestes dates. Aquest fet, juntament amb una fallada en el sistema de refrigeració, podria posar en risc el treball realitzat, per la qual cosa es va considerar necessària aquesta tercera aplicació per intentar pal·liar els efectes de l'augment de temperatura.

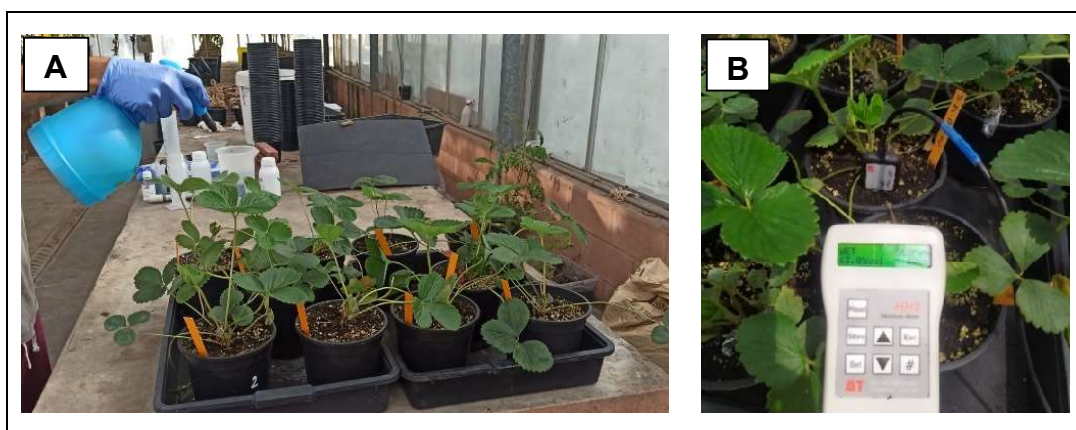


Figura 2. (A) Aplicació del tractament de bioestimulants al cultiu. (B) Mesura de la humitat del substrat dels tests.

Durant tot l'assaig, es van recollir setmanalment les mesures necessàries per controlar l'estrès hídric (humitat del substrat) (Il·lustració 2B) i l'evolució del cultiu al llarg de tot el cicle (nombre i longitud de fulla, nombre d'estolons, flors i fruits presents, i mesura de l'àrea foliar). Primerament, es mesurava la humitat del substrat per assegurar-se que es mantenia en els valors establerts i així cap manipulació posterior afectaria la mesura. Posteriorment, es procedia a prendre les altres mesures. Per a una millor manipulació, es retirava una safata amb 5 plantes de la bancada, es prenen les mesures, es realitzava la irrigació i després es tornava a col·locar la safata en una posició diferent a la inicial per evitar que la il·luminació afectara els resultats finals. En quant a la mesura de la longitud de fulla i de l'àrea foliar, a l'inici s'escollí la fulla més llarga i sana que millor representara la planta. Aquesta fulla es marcava per poder prendre les mateixes mesures al llarg de tot l'assaig. Per a la mesura de la longitud, s'utilitzava una regla graduada en mil·límetres de 30 cm de longitud, mentre que per a la mesura de l'àrea foliar, es prenia una foto amb un fons blanc (Il·lustració 3A) per poder utilitzar el programa informàtic Digimizer v.6.1 software (MedCalc Software, Ostend, Belgium, 2005-2016) per a prendre les mesures. Pel que fa als fruits, a mesura



que arribaven al seu punt òptim de recol·lecció, es recollien, es pesaven i se'n prenen les mesures de longitud (Il·lustració 4A) i diàmetre (Il·lustració 4B) per a cada fruit, utilitzant un peu de rei digital.

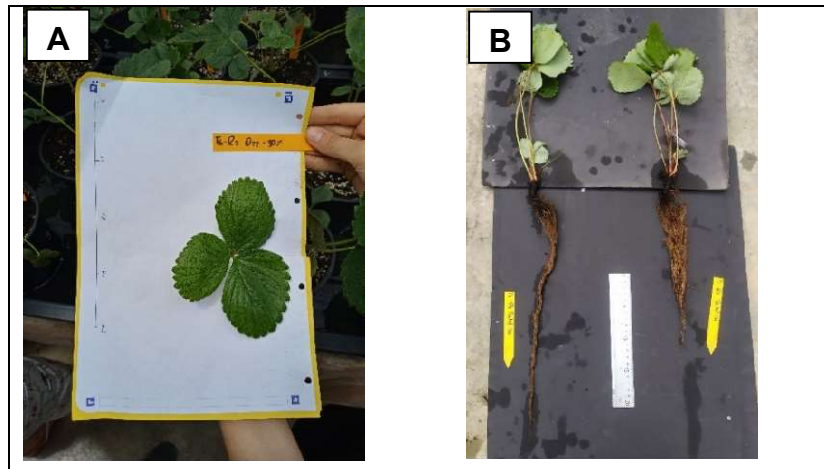


Figura 3. (A) Disposició de les fulles per fer la mesura de l'àrea foliar. (B) Disposició de les plantes per mesurar la longitud d'arrel i fulles.

Al final del cicle, a més de les mesures assenyalades, es va seguir el següent procés: les plantes es van traure dels cossiols amb molta cura per evitar trencar les arrels més fines de la planta de la maduixa, es van rentar amb aigua abundant per separar la torba i la perlita adherida al sistema radicular. Un cop retirat tot el substrat, es va mesurar la longitud de cadascuna de les parts de cada planta (Il·lustració 3B), es van separar les parts aèries i radiculars de les plantes tallant-les amb tisores, i al mateix temps, els estolons es van separar de les fulles. Un cop dividit, es va pesar en una balança digital de precisió. Realitzades i anotades totes les mesures, per tal d'obtindre el pes sec, cada part de les plantes es van posar en paper d'alumini i es va identificar a quin tractament pertanyia, el número de cossiols en el qual es trobava i la part de planta que era, de manera que fos fàcilment identificable. Aquestes mostres vegetals es van portar a l'estufa, on van romandre durant 14 dies a una temperatura constant de 60 °C. Després d'aquest temps i havent perdut tota la humitat, es va pesar cada mostra amb una balança digital de precisió i es va anotar el pes sec de cada part de cada una de les plantes.

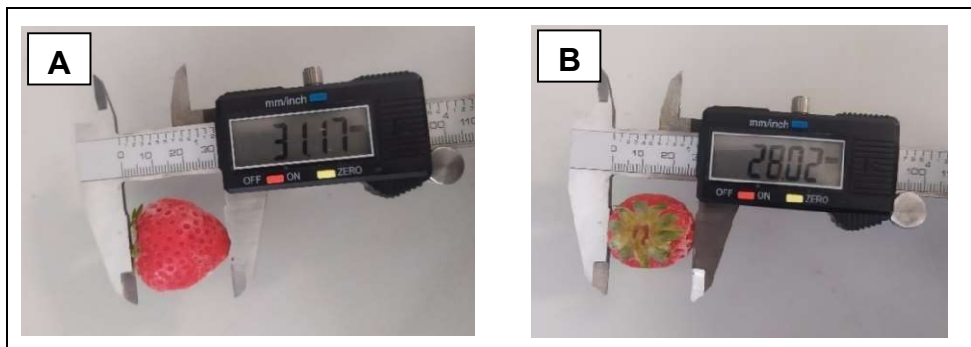


Figura 4. Mesura del tamany de les fresses. (A) Longitud. (B) diàmetre.



Així doncs, obtinguts els pesos frescos i secs de totes les fresseres de l'assaig, es pogué obtindre el contingut hídric tant de les parts aèries com de les radiculars mitjançant la següent fórmula:

$$\text{Contingut hídric (\%)} = \frac{\text{Pes fresc} - \text{pes sec}}{\text{Pes fresc}} * 100$$

A continuació, de forma més visual i resumida, es mostra una taula amb tots els paràmetres mesurats i analitzats setmanalment durant l'assaig i al final d'aquest (Taula 2).

*Taula 2. Paràmetres mesurats al llarg de l'assaig*

<b>Paràmetres</b>	<b>Periodicitat mesura</b>
Humitat del substrat	Setmanal
Nombre fulles	
Longitud fulla	
Àrea fulla	
Nombre de flors presents en planta	
Nombre de fruits presents en planta	
Nombre d'estolons	
Fruits recol·lectats	
Pes dels fruits recol·lectats	
Longitud dels fruits recol·lectats	
Amplària dels fruits recol·lectats	
Pes fresc de les fulles	Al finalitzar l'assaig
Pes fresc dels estolons	
Pes fresc de les arrels	
Pes sec de les fulles	
Pes sec dels estolons	
Pes sec de les arrels	
Longitud total de les fulles	
Longitud dels estolons	
Longitud total de les arrels	

A la Taula 3 es mostra un resum en forma de taula on es reflecteixen els dies que es realitzaren la presa de mesures setmanalment.

*Taula 3. Dies en els que es mesuraren els paràmetres de seguiment de l'assaig*

<b>Setmana</b>	<b>Dia en el que es realitzaven les mesures</b>
S1	25/05/2022
S2	01/06/2022
S3	08/06/2022
S4	15/06/2022
S5	22/06/2022
S6	29/06/2022
S7	06/07/2022
S8	13/07/2022
S9	20/07/2022
S10	27/07/2022
S11	03/08/2022
S12	10/08/2022

### **3.3. ANÀLISIS ESTADÍSTIC**

Totes les dades recollides al llarg del treball s'introduïren al programa Excel per poder tindre un millor maneig posteriorment. Una vegada obtinguts tots els resultats, les dades s'analitzaren mitjançant el programa informàtic SPSS for Windows, Version 16.0. Chicago, SPSS Inc. Previ a el anàlisis de variància, s'ha comprovat la normalitat de la distribució amb el test Shapiro-Wilk i la homogeneïtat de la variància amb el test de Levene. En quant a les diferències significatives entre tractaments, es comprovaren mitjançant un anàlisis de la variància (ANOVA) de una via amb un nivell de confiança del 95%, i les comparacions post hoc es realitzaren mitjançant la prova Tukey a  $p < 0,05$ . Per tal de comprovar l'efecte dels bioestimulants, dels tractament d'estrés hídric i la seva interacció sobre el cultiu, es realitzaren proves ANOVA de dos factors.

## 4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

A continuació es mostren els resultats obtinguts de cada paràmetre al final de l'assaig.

### 4.1. RESULTATS DE LA HUMITAT DEL SUBSTRAT

El seguiment de la humitat al llarg de tot el cicle de treball és fonamental per assegurar els nivells d'estrès als quals es troben sotmeses les plantes d'estudi. Així doncs, setmanalment s'ha anat mesurant totes les humitats per corroborar el nivell en què es trobaven els substrats, obtenint-se així un gràfic amb l'evolució mitjana de la humitat per a cada cas estudiat (Il·lustració 5).

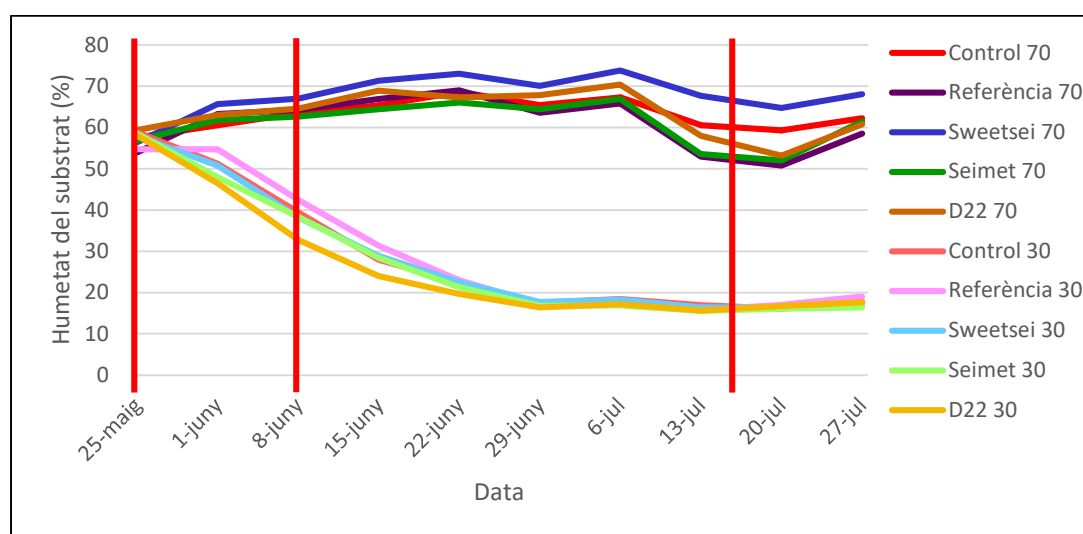


Figura 5. Evolució de la humitat del substrat (%) per a cada tractament al llarg de l'assaig durant els mesos de maig fins a juliol de 2022.

Les marques roges verticals indiquen les dades de realització dels tractaments amb bioestimulants.

Tal com s'observa, tots els cossiols parteixen d'un mateix nivell d'humitat. A les dues setmanes, aquells tractaments amb l'objectiu d'una humitat del 30% tenen una clara tendència descendent, la qual cosa provoca que les plantes comencen a patir un cert nivell d'estrès. Aquest fet coincideix amb el segon tractament amb els bioestimulants. Dues setmanes més tard, es pot apreciar com la humitat del substrat arriba al seu mínim al voltant del 20%, a partir del qual es manté estable fins al final de l'assaig.

D'altra banda, pel que fa als tractaments amb l'objectiu d'una humitat del 70% del substrat, a les tres setmanes de començar el treball ja s'observa una estabilització. No obstant això, entre el 6 de juliol i les dues setmanes següents es produeix un descens, coincidint amb les dues setmanes en què el sistema de *cooling* de l'hivernacle va fallar, provocant un augment de l'evapotranspiració de les plantes. Posteriorment, amb el tancament de l'assaig, els valors tornen a tendir cap als valors adequats.

## 4.2. EFECTES DELS TRACTAMENT I ESTRÉS HÍDRIC SOBRE LES PLANTES

### 4.2.1. Anàlisi de dos vies del conjunt dels paràmetres analitzats

Per a tot el conjunts de dades obtingudes al final de l'assaig s'ha realitzat un anàlisi estadístic de dos vies, obtenint així, per a cada un dels paràmetres estudiats, si ha hagut diferències significatives bé per part dels tractaments en bioestimulants, bé a causa del nivell hídric mantingut al substrat, o bé si ha hagut diferències estadístiques per la combinació de tractament i el nivell hídric.

Taula 4: Resultats del ANOVA dels factors tractament i nivell hídric del substrat, i la seva interacció.

Paràmetre	Tractament		Nivell hídric		Interacció	
	F	p	F	p	F	p
Nombre fulles	2,476	0,050*	1,822	0,180 ns	1,563	0,191 ns
Nombre estolons	0,022	0,098 ns	0,893	0,347 ns	1,228	0,305 ns
Longitud fulla	1,665	0,165 ns	0,857	0,357 ns	3,327	0,014*
Àrea foliar	0,442	0,778 ns	0,250	0,618 ns	0,378	0,824 ns
Nombre total fruits	1,355	0,256 ns	22,392	0,000***	0,257	0,905 ns
Diàmetre fruits	7,290	0,000***	77,610	0,000***	6,400	0,000***
Altura fruits	4,380	0,003**	60,290	0,000***	3,990	0,005**
Pes fruits	0,760	0,553 ns	31,690	0,000***	0,290	0,882 ns
Longitud fulles	0,676	0,610 ns	0,612	0,436 ns	2,210	0,074 ns
Longitud part radicular	0,124	0,973 ns	23,655	0,000***	2,717	0,035*
Longitud estolons	2,120	0,081 ns	67,620	0,000***	0,430	0,789 ns
Pes fresc fulles	18,438	0,000***	33,634	0,000***	4,229	0,003**
Pes fresc part radicular	2,671	0,035*	36,503	0,000***	0,789	0,536 ns
Pes fresc estolons	0,571	0,684 ns	72,653	0,000***	0,453	0,770 ns
Pes sec fulles	11,589	0,000***	2,383	0,126 ns	2,885	0,027*
Pes sec part radicular	7,045	0,000***	0,300	0,585 ns	1,355	0,256 ns
Pes sec estolons	1,040	0,391 ns	47,495	0,000***	0,960	0,434 ns
Contingut fulles	10,615	0,000***	183,883	0,000***	3,718	0,008**
Contingut hídric part radicular	16,804	0,000***	177,130	0,000***	8,893	0,000***
Contingut hídric estolons	2,957	0,024**	64,052	0,000***	1,962	0,107 ns

Les dades representen els valors F amb el seu significat estadístic. \*p≤0,05, \*\*p≤0,01, \*\*\*p≤0,001, ns= no significatiu.

Així doncs, s'ha obtingut la Taula 4, on es mostra clarament per a quins paràmetres i per quins factors s'han obtingut diferències significatives, així com el nivell de confiança d'aquestes.

Una vegada estudiades les dades, s'observen els següents resultats:

- No s'ha conseguit obtenir cap distinció tant per part dels tractaments com per l'estrés hídric, com per la seva combinació, per als paràmetres de nombre d'estolons, àrea foliar i longitud fulles.
- En quant al nombre de fulles, s'ha trobat una diferència amb una confiança del 95% per al factor tractament, però no s'ha trobat cap distinció en funció del nivell hídric del substrat ni la interacció tractament-nivell hídric.
- En canvi, per al paràmetre longitud de fulla, no es troba distinció entre els dos factors estudiats per separat, però sí s'observa una xicoteta diferència amb la interacció d'ambdós.
- Pel que respecta a nombre de fruits recol·lectats i el seu pes, les conclusions són les mateixes per ambdós, hi ha una alta dispersió de les dades en l'anàlisi del nivell hídric i s'ha obtingut una diferència amb un alt grau de confiança, a causa de la baixa producció de les plantes sotmeses a estrés. No s'ha trobat cap distinció en funció del tractament ni de la interacció tractament-nivell hídric.
- No obstant, sí s'observen distincions en les mesures altura i diàmetre del fruit per a tots els factors, tant per part del bioestimulant aplicat, l'estrés hídric, com la seva interacció. Aquestes diferències també presenten una alta dispersió per al factor nivell hídric, el fet de que hi apareguen les diferències es degut a la nul·la producció per part dels supostos Sweetsei i D22 en 30%.  
Cal remarcar el fet de l'existència de diferències de diàmetre i altura del fruit en quant al factor tractament però no per al pes.
- En quant a l'anàlisi de les diferents parts de les plantes, quan s'observa els resultats de la part radicular hi apareixen diferències segons quin paràmetre es comprova. Així doncs, pel que respecta a la longitud, presenta una gran confiança en quan a la diferència per l'estrés hídric i sols una confiança del 95% per a la interacció. En quant als pesos, en fresc s'hi mostren diferències en quant al tractament i estrés hídric però no per la interacció, aquest resultat no es veuen reflectits de igual manera per al pes en sec, ja que en aquest cas sols hi ha una gran confiança en quant al factor tractament però no hi ha cap per al nivell hídric i la interacció. No obstant, al comparar els continguts hídric, es mostra una gran significació per als diferents tractament amb bioestimulants, per al nivell hídric i la seva interacció.
- Per altra banda, si s'observen les dades corresponents a les fulles, en quant a longituds no s'han obtingut diferències, no obstant, en els pesos i el contingut hídric sí. En els tres casos

s'han obtingut diferències en la interacció tractament-nivell hídric. Altrament, tant en pes fresc i sec com en contingut hídric sí hi ha diferències significatives en funció del factor tractament, però, per al factor nivell hídric sols s'ha trobat per al pes fresc i contingut hídric, la qual cosa pot indicar que l'estrés hídric no afecta a l'acumulació de matèria seca, sols als contingut en aigua.

- Per últim, a més de la diferència per l'estrés, en els estolons s'han donat casos diferents. En quant a longitud sols s'ha trobat diferències per el nivell hídric, ja que la falta de reg ha disminuït el vigor per a aquest òrgan. Degut a aquesta diferència de tamany, els pesos secs i frescs han sorgit amb les mateixes conclusions, sols hi ha diferència degut a l'estrés hídric. No obstant, per al contingut hídric, també s'ha obtingut alguna diferència per el tipus de tractament amb bioestimulant, però no en la interacció d'ambdós factors.

#### **4.2.2. Resultats dels paràmetres sobre les fulles**

Els paràmetres vinculats a les fulles són els relacionats amb el nombre total per planta i, àrea i longitud de la fulla més representativa, així com també les dades relacionades amb el pes i contingut hídric.

Tal i com s'observa a la Il·lustració 6A, el nombre de fulles s'ha mantés aproximadament constant en tots el tractament al llarg de tot el cicle, ja que es mantenia un ritme constant de senescència i nascència de les fulles, però, sense mostrar cap diferència entre supostos en cap moment de l'assaig. Cal destacar la pujada que s'experimentà les primeres setmanes, ja que coincideix amb el període posterior a l'adaptació de les plantes al medi de l'hivernacle; també s'observa una reducció a juliol, conseqüència de l'estrés sofrit per totes les plantes per un augment de les temperatures.

En quant a l'àrea foliar i la longitud de fulla, s'ha observat un creixement general des del primer dia de treball fins l'últim, tal com s'esperava degut al seu creixement natural (Il·lustració 6 B i C).

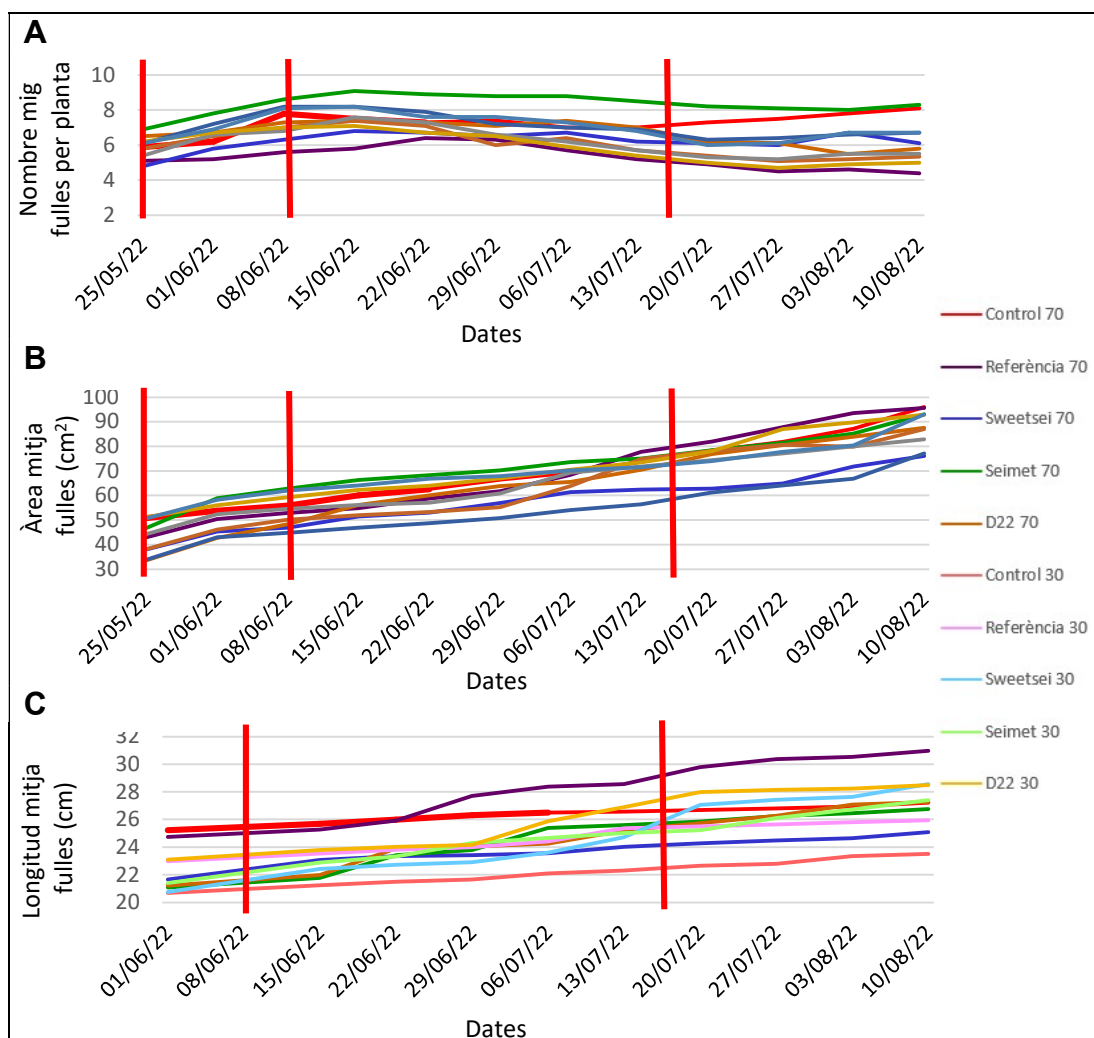


Figura 6. Evolució dels paràmetres mesurats en fulles al llarg de l'assaig durant els mesos de maig a agost de 2022 per a cada un dels supostos treballats. Els paràmetres són: (A) nombre de fulles, (B) àrea mitja de les fulles i (C) longitud mitja de les fulles.

Les marques roges verticals indiquen les dates de realització dels tractaments amb bioestimulants.

Per altra banda, si s'analitzen les dades obtingudes per a l'últim dia i es realitza un anàlisi ANOVA per a un sol factor per als factors per separat de 70% i de 30% de contingut hídric del substrat, no es detecten diferències significatives per al nombre, l'àrea i longitud mitjana de les fulles (Il·lustració 7). Aquest fet contrasta amb el anàlisi de dos vies de la Taula 4 on indicava una diferència entre tractaments per al nombre de fulles, segurament aqueix resultat és degut a ajuntar totes les dades dels diferents nivells hídrics i el no haver diferència en la interacció entre ambdós factors. També contrasta amb què s'obtenia diferències per la interacció entre factors en quant a la longitud de fulla, pot ser degut a que els anàlisis d'una via donen nivells de significació propers al 95% però sense arribar-hi, per tant, al analitzar totes les dades juntes sí es reflecteix matemàticament. Així doncs, com tampoc hi ha diferències entre plantes estressades i no estressades, es pot afirmar que ni l'aplicació de bioestimulants ni el sotmetiment a estrès hídric ha afectat al nombre de fulles per planta, la seva longitud ni a la seva àrea foliar.

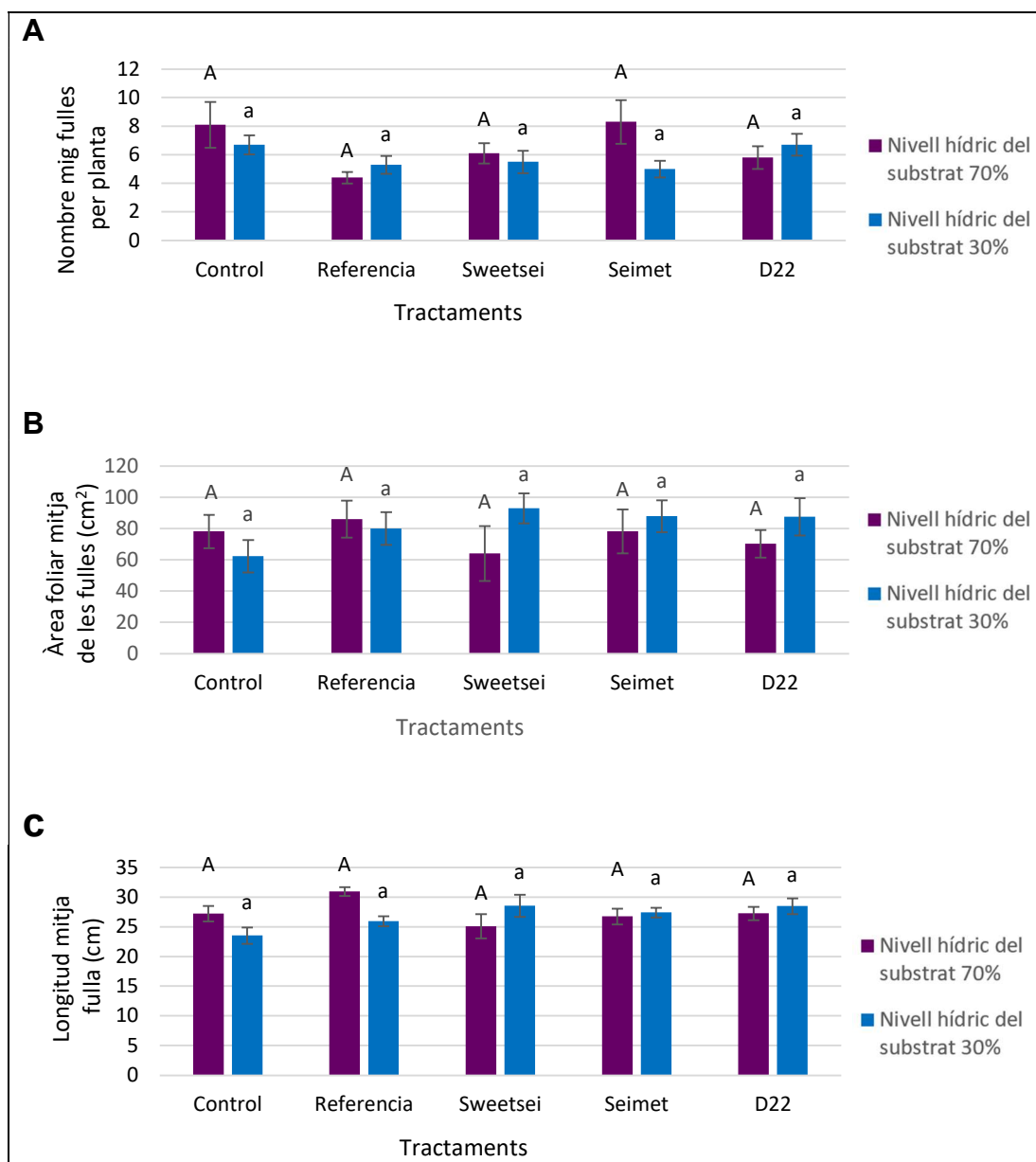


Figura 7. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) el nombre de fulles per planta, (B) àrea foliar i (C) longitud mitja de fulla, al finalitzar l'assaig.

Els valors indicats son mitges amb SD (n=10). Les lletres majúscules diferents indiquen diferències significatives entre els tractaments a nivell hídric de 70% i les minúscules a nivell hídric de 30%, segons el test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

En referència a les demás dades corresponents a les fulles, amb la longitud mitja no s'ha trobat cap diferència, amb la qual cosa es pot afirmar que ni els bioestimulants ni la manca d'aigua ha afectat a aquest paràmetre. Si bé, sí s'han trobat diverses diferències en quant als pesos frescs i secs i el contingut d'aigua en les plantes.

En quant al pes fresc, a la Taula 4 ja es mostrava que existeixen clares diferències en els dos factors com en la seua interacció. Així doncs, després de realitzar un anàlisi ANOVA d'un factor per tractament separant els dos nivells d'humitat del substrat, s'ha obtingut els resultats presents en l·lustració



8A. A més, mostra com l'aplicació del bioestimulant Seimet ha estat clarament favorable a la resta de supostos a excepció de D22; al mateix temps, D22 presenta resultats entre Seimet i control. El bioestimulant de referència i Sweetsei, no obstant, no es diferencien del control quan el substrat es troba al 70% d'humitat i, addicionalment, presenten pesos més baixos quan hi ha present un estrès hídric.

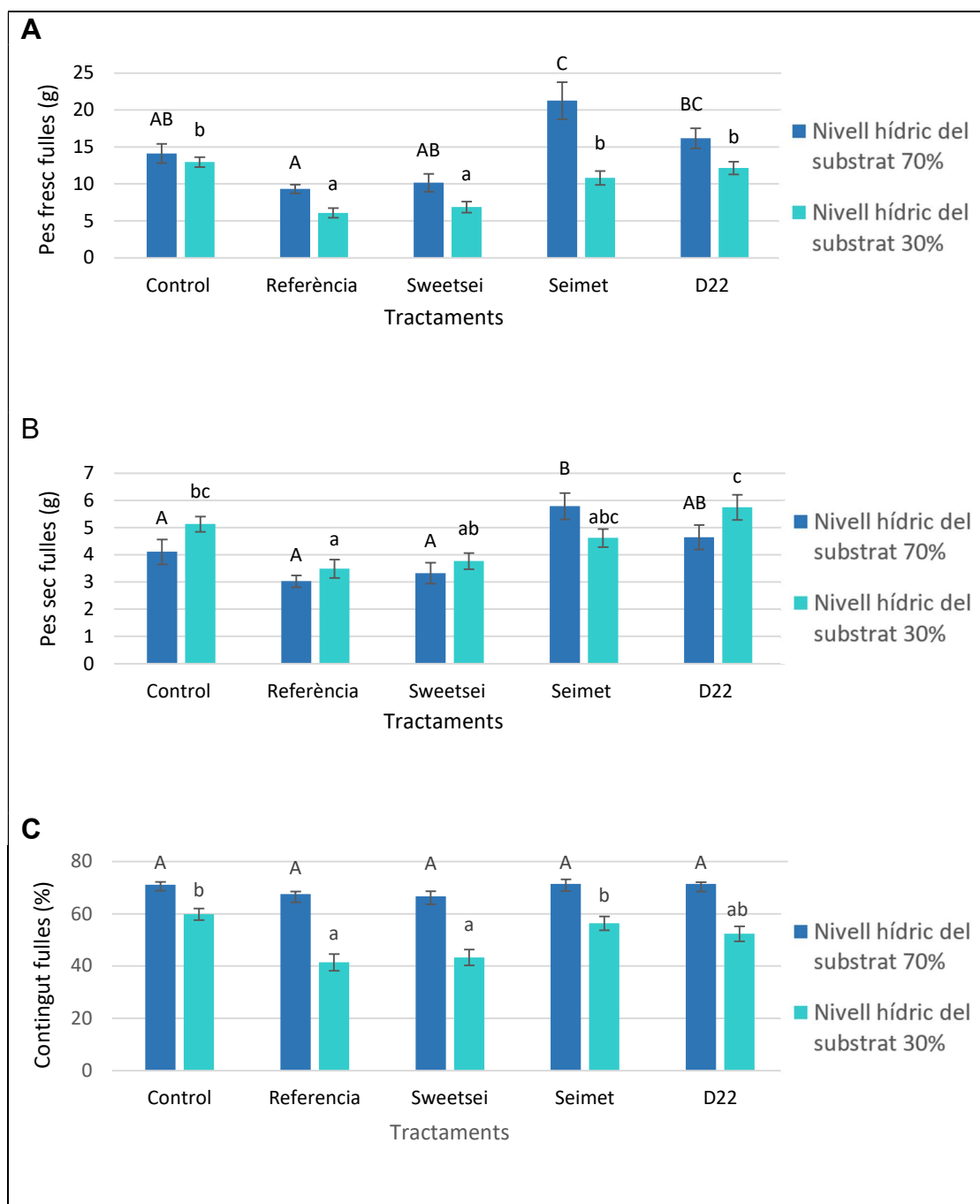


Figura 8. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) el pes fresc de les fulles, (B) el pes sec de les fulles i (C) el contingut hídric de les fulles, al finalitzar l'assaig.

Els valors indicats són mitges amb SD (n=10). Les lletres majúscules diferents indiquen diferències significatives entre els tractaments a nivell hídric de 70% i les minúscules a nivell hídric de 30%, segons el test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

Per altra banda, una volta assecat el material vegetal, amb els pesos secs els resultats varien (Il·lustració 8B). Com s'ha mencionat anteriorment, no existeixen clares diferències entre els resultats amb i sense estrés (Taula 4). En relació als tractaments, Seimet continua destacant sobre control, però sols quan el substrat es troba al 70%, i D22 es troba entre ambdós supostos. Igualment, amb el substrat al 30% les diferències es dilueixen: Seimet no presenta diferència amb cap supost, Sweetsei no es diferencia del control ni del bioestimulant de referència i, a més d'això, referència ha obtingut resultats més baixos que control, no obstant, D22 destaca diferenciant-se de tots els supostos a excepció del control.

Per últim en quant a les fulles (Il·lustració 8C), hi ha una clara diferència entre els dos nivells hídrics, com s'ha demostrat a la Taula 4. Per a tots els supostos amb un nivell del 70% d'humitat els resultats han estat iguals, les diferències entre els tractaments es troben en els supostos estressats hídricament. Així doncs, al analitzar els resultats obtinguts per al nivell d'humitat del substrat al 30% s'obté que el tractament amb el bioestimulant de referència i el de Sweetsei, al igual que en els pesos, han obtingut valors per davall del control però, en aquest cas es suma el tractament amb D22, que no presenta diferències amb cap supost. El tractament amb Seimet es diferencia de referència i Sweetsei, però no de D22 i control.

Així doncs, les principals diferències en quant a les fulles s'han trobat en que els tractaments amb el bioestimulant de referència i Sweetsei donen resultats més baixos en quant acumulació d'aigua i matèria seca quan les plantes es troben baix estrés hídric. Anàlogament, Seimet destaca per la seva millora en l'acumulació de matèria seca en condicions sense estrés hídric.

#### **4.2.3. Resultats dels paràmetres sobre els estolons**

Relacionat amb els estolons s'hi troben les dades de nombre d'estolons, longitud d'aquests, pesos frescs i secs i contingut hídric.

En quant al nombre d'estolons, tal com s'observa a la Il·lustració 9, ha estat uniforme per a tots els supostos assajats, començant a brotar a partir de la quarta setmana treball i estabilitzant-se el nombre quatre setmanes després. Si es realitza un anàlisi estadístic, no es troba cap diferència significativa entre els 10 supostos, tant al llarg del cicle com al final del mateix (Taula 4).

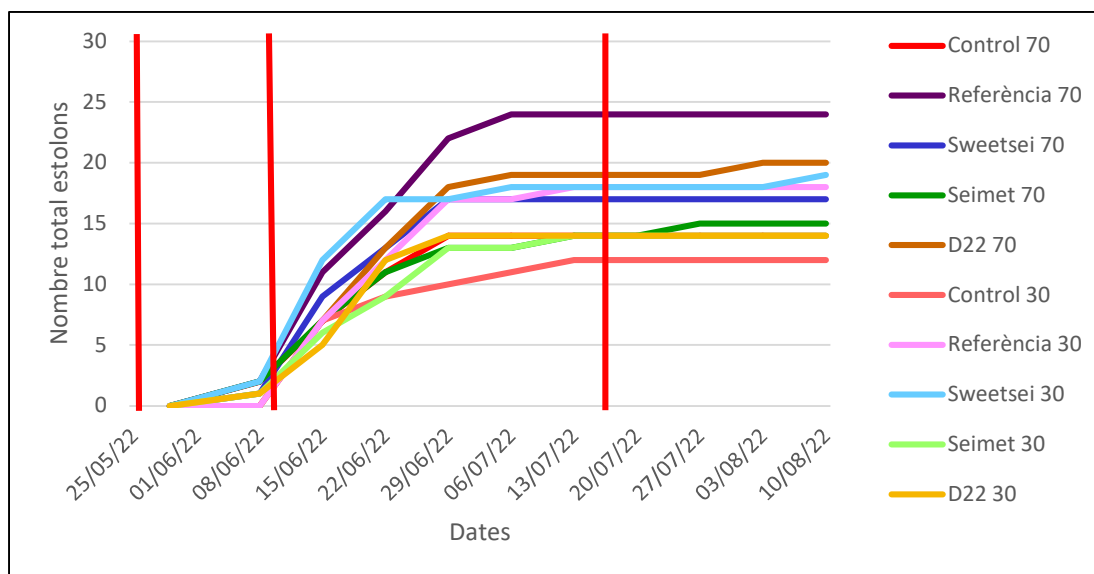


Figura 9. Evolució del nombre d'estolons totals per supost llarg de l'assaig durant els mesos de maig a agost de 2022.

Les marques roges verticals indiquen les dades de realització dels tractaments amb bioestimulants.

Igualment, si amb les dades de la longitud mitja dels estolons es realitza un anàlisi ANOVA per a un sol factor per al factor tractament separant cada humitat del substrat, i s'aplica a un gràfic de barres, s'obté la Il·lustració 10A, on es veu de forma gràfica l'absència de diferències entre els diferents supostos dins d'un mateix nivell hídric del substrat. No obstant, sí s'hi veu clar la diferència entre els diferents nivells hídrics que indicava la Taula 4 en el ANOVA de dos factors.

En el cas dels pesos frescs i secs dels estolons, els resultats han estat molt similars als de longitud. En ambdós casos (Il·lustració 10 B i C), al realitzar l'anàlisi estadístic de un sol factor, s'observa com no hi ha cap diferència entre els supostos d'un mateix nivell hídric, i al realitzar el gràfic de barres queda clara la diferència entre els nivells hídrics que es marcava a la Taula 4.

Tanmateix, pel que respecta als continguts hídrics de les plantes, tal com ha sorgit al realitzar l'anàlisi de dos factors, es pot veure com hi ha una diferència tant entre les plantes amb estrès i les que no en tenien, així com també per l'efecte tractament. Ara bé, les diferències entre tractaments sols han sorgit en les plantes sotmeses a estrès hídric, ja que les que hi tenien un nivell hídric del substrat del 70% han presentat totes els mateixos valors. Així, els tractaments amb el bioestimulant Seimet i D22 han presentat millores respecte els realitzats amb el bioestimulant de referència i Sweetsei, però no amb el control. Per banda, el tractament amb Sweetsei presenta el valor més baix amb diferència de tots els supostos exceptuant el de referència.

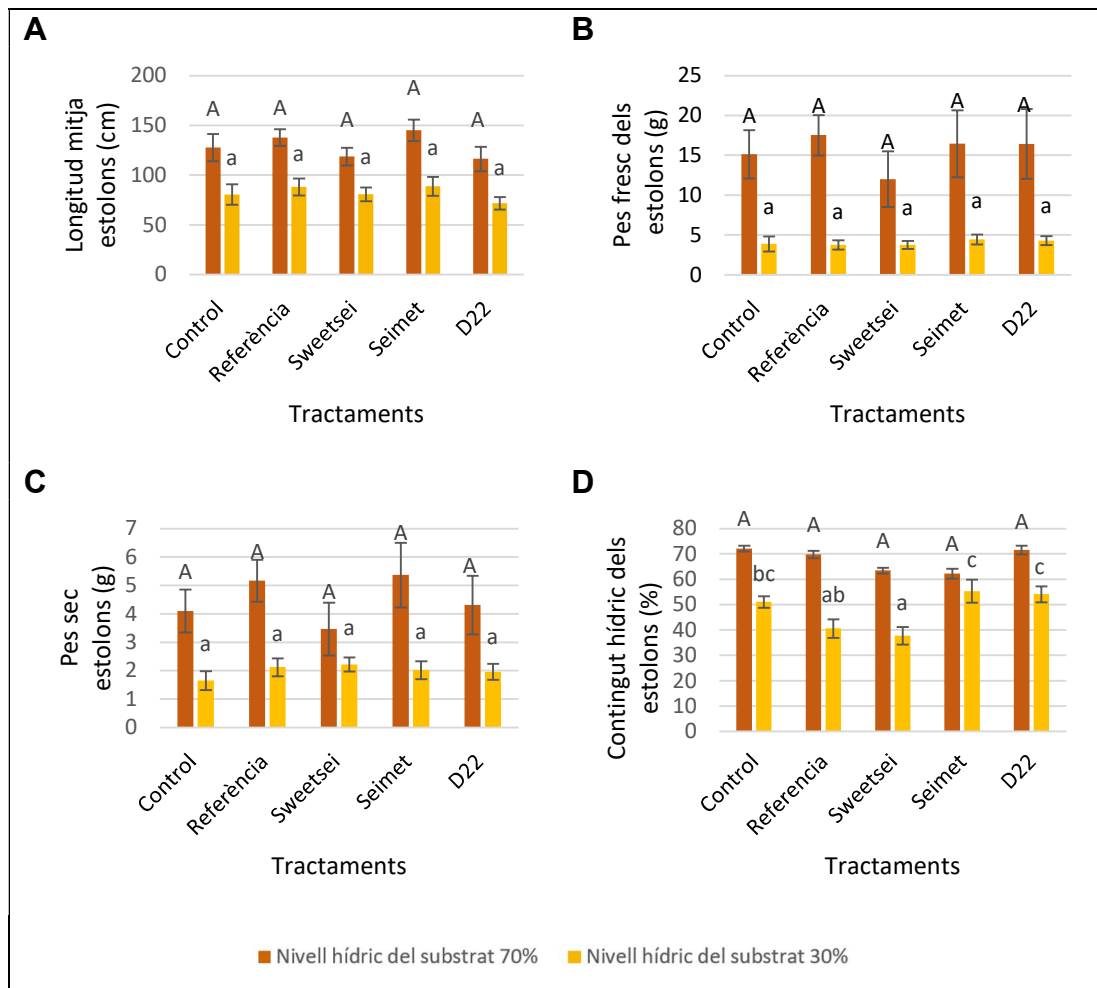


Figura 10. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) la longitud mitja dels estolons, (B) el pes fresc dels estolons, (C) el pes sec dels estolons i (D) el contingut hídic dels estolons, al finalitzar l'assaig.

Els valors indicats son mitges amb SD (n=10). Les lletres majúscules diferents indiquen diferències significatives entre els tractaments a nivell hídic de 70% i les minúscules a nivell hídic de 30%, segons el test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

En conclusió, una adequada aportació hídrica no ha fet variar la brotació dels estolons en nombre, però sí ha influenciat en el seu creixement (tal com s'observa en les imatges model de la Il·lustració 11), fet que cap bioestimulant ha estat capaç de millorar. Açò s'ha revertit en una major acumulació de matèria, obtenint així un major pes per a totes les plantes amb un nivell hídic de substrat del 70%, que els bioestimulants tampoc han estat capaços de millorar. No obstant, en cas d'estrés hídic, s'ha comprovat que el tractament amb Sweetsei provoca una menor acumulació d'aigua respecte el control.

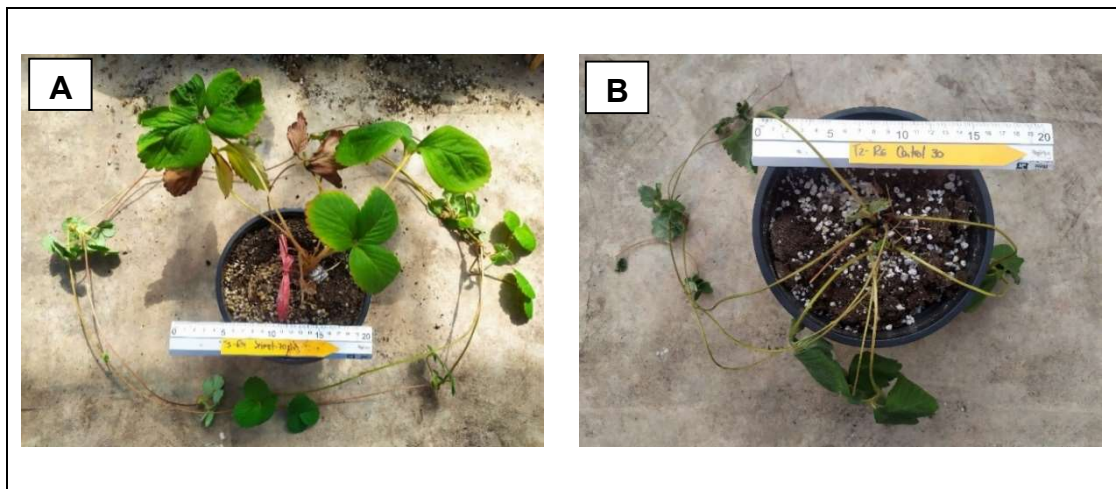


Figura 11. (A) Planta sense estrès hídric. (B) Planta amb estrès hídric.

#### 4.2.4. Resultats dels paràmetres sobre la part radicular

En quant a les arrels, les dades obtingudes sols son per a l'últim dia d'assaig, ja que suponien la mort de les plantes, els paràmetres mesurats son: longitud de les arrels, el seu pes fresc i sec, així com el seu contingut hídric.

Al realitzar el anàlisis ANOVA de dos factors mostrat a la Taula 4, s'assenyalava què, per a aquest òrgan de la planta, hi havia una clara diferència amb els resultats en quant al factor nivell hídric del substrat per a tots els paràmetres excepte el pes sec, hi havia diferència en quant al factor tractament per a tots els paràmetre excepte la longitud i, per a la interacció dels dos factors, sols hi havia diferència de la longitud amb un nivell de confiança del 95% i per al contingut hídric amb un 99,999%. Tanmateix, després de realitzar un altre anàlisis estadístic ANOVA de un sol factor per als factors tractament per separat en cada humitat del substrat, s'han obtingut els resultats de la Il·lustració 12.

Pel que respecta a la longitud de les arrels, a la Il·lustració 12A s'observa com, per a la majoria de supostos, dins de cada nivell hídric no hi ha cap diferència en quant als tractaments. Cal destacar el fet què per a els tractaments control, Sweetsei i Seimet els resultats no disten tant amb i sense estrès hídric, però per als tractaments D22 i el bioestimulant de referència sí, per això al ANOVA de dos factor es mostra una diferència en la interacció.

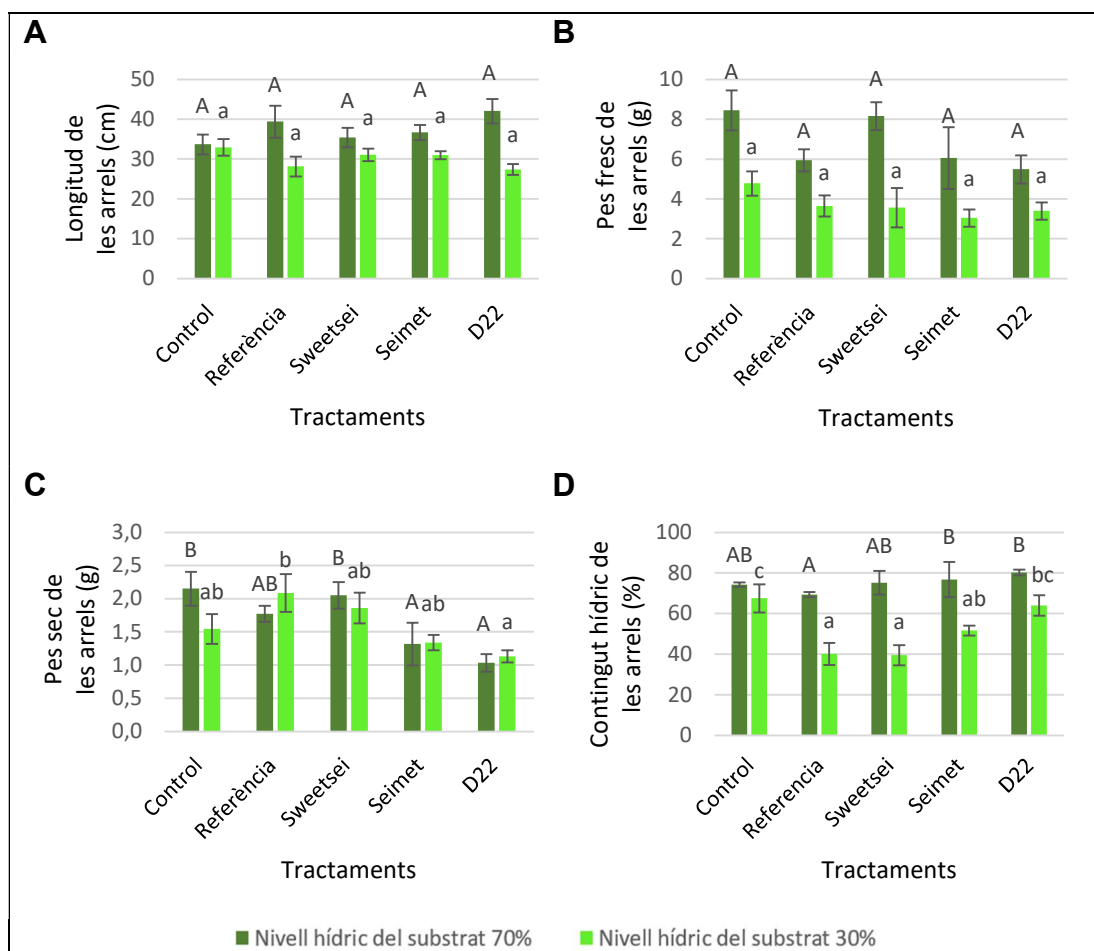


Figura 12. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) la longitud mitja de les arrels, (B) el pes fresc de les arrels, (C) el pes sec de les arrels i (D) el contingut hídric de les arrels, al finalitzar l'assaig.

Els valors indicats són mitges amb SD (n=10). Les lletres majúscules diferents indiquen diferències significatives entre els tractaments a nivell hídric de 70% i les minúscules a nivell hídric de 30%, segons el test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

En quant al pes fresc, al realitzar el ANOVA d'un factor queda reflectit que no hi ha diferències significatives entre tractaments per a cada un dels nivells hídrics del substrat, també queda clar que sí hi ha en funció del reg aportat (Il·lustració 12B); el fet de que al ANOVA de dos factors sí sorgira una diferència és per ajuntar totes les dades en un mateix anàlisi.

Amb el pes en sec, els resultats varien molt respecte als frescs, en aquest cas no s'observen diferència entre les plantes amb estrés i sense, però sí es veu que hi ha hagut variacions en quant als tractaments (Il·lustració 12C). Així doncs, els tractaments amb Seimet i D22 han obtingut menys acumulació de matèria seca que la resta, excepte amb estrés hídric, on ambdós comparteixen dades similars amb control i Seimet amb tots els tractaments; però, la resta de tractaments no s'ha diferenciat entre ells ni amb control, tant amb i sense estrés.

Per últim, pel que respecta al contingut hídric, a la Il·lustració 12D es pot veure com els anàlisis d'un factor confirmen el obtingut pel de dos factors: hi

ha diferència a nivell tractament, a nivell estat hídric del substrat i per a la seva interacció. Així doncs, s'observa com les plantes estressades hídricament han acumulat menys aigua. Igualment, s'observa que quan no hi ha estrés els tractaments amb Seimet i D22 milloren el contingut hídric respecte el bioestimulant de referència, però, la resta de dades sense estrés son similars. No obstant, quan hi ha un estrés hídric, els tractaments amb el bioestimulant de referència, Sweetsei i Seimet obtenen menors continguts hídrics que el control; tan sols el tractament amb D22 s'equipara al control, que al mateix temps també s'equipara als resultats de Seimet.

Així doncs, el tractament amb qualsevol dels quatre bioestimulants treballats no millora la longitud de les arrels amb i sense estrés, sols la disponibilitat d'aigua és la responsable de la variació. Per altra banda, l'aplicació del bioestimulant de referència i Sweetsei no creen cap efecte en quant a l'acumulació de matèria seca i provoquen una menor acumulació d'aigua a les arrels, en canvi D22 crea una menor acumulació de matèria seca però una major acumulació d'aigua.

#### **4.2.5. Resultats dels paràmetres sobre els fruits**

El anàlisi dels resultats dels fruits s'ha realitzat per a cada un dels paràmetres estudiats: nombre total de fruits, pes, longitud mitjana i diàmetre mig. Cal senyalar que s'ha obtingut un total de 82 fruits amb un pes total de 396,62 grams. Aquest nombre es pot considerar com a baix, ja que l'estudi es trobava format per un total de 100 plantes i, tenint en compte que la producció mitja del maduixot var. Camarosa es aproximadament de 1.500g/planta, les dades de producció han quedat molt llunyanes del esperat; açò pot ser degut a l'època de realització del treball, ja que no coincideix amb el moment de màxima producció d'aquesta espècie.

No obstant, igualment s'ha realitzat un anàlisi estadístic ANOVA del factor tractament en cada nivell hídric del substrat, per extraure les possibles diferències que es poden haver tret entre els diferents supostos (Il·lustració 13).

En quant al nombre de fruits finalment recol·lectats, clarament s'observa la diferència entre ambdós nivells hídrics del substrat (Il·lustració 13A), ja que una de les principals conseqüències de l'estrés hídric és la disminució de la productivitat. No obstant, cap de les aplicacions amb bioestimulants ha estat capaç de millorar al control, tant en els supostos amb estrés i sense estrés. Cal comentar el fet de que hi haja dos supostos que la producció ha sigut nul·la, Sweetsei i D22 amb estrés hídric; com que la recol·lecció en general ha estat tan baix, sobretot per a les plantes amb els nivell hídric del substrat al 30%, la falta de producció d'aquests dos supostos en aquest paràmetre no ha influenciat a l'hora extraure les diferències estadístiques.

Pel que respecta al pesos obtinguts, a la Il·lustració 13B s'observa la diferència entre els dos nivells hídrics que es representa a la Taula 4. Tanmateix, al realitzar el ANOVA d'un factor, s'observa com dins dels resultats de les plantes estressades sí apareixen diferències significatives; en aquest

cas, es diferencia els supostos que han obtingut producció dels que no, exceptuant el tractament amb Seimet, que degut a la dispersió de les seves dades i el poc nombre d'aquestes no es diferencia de cap supost.

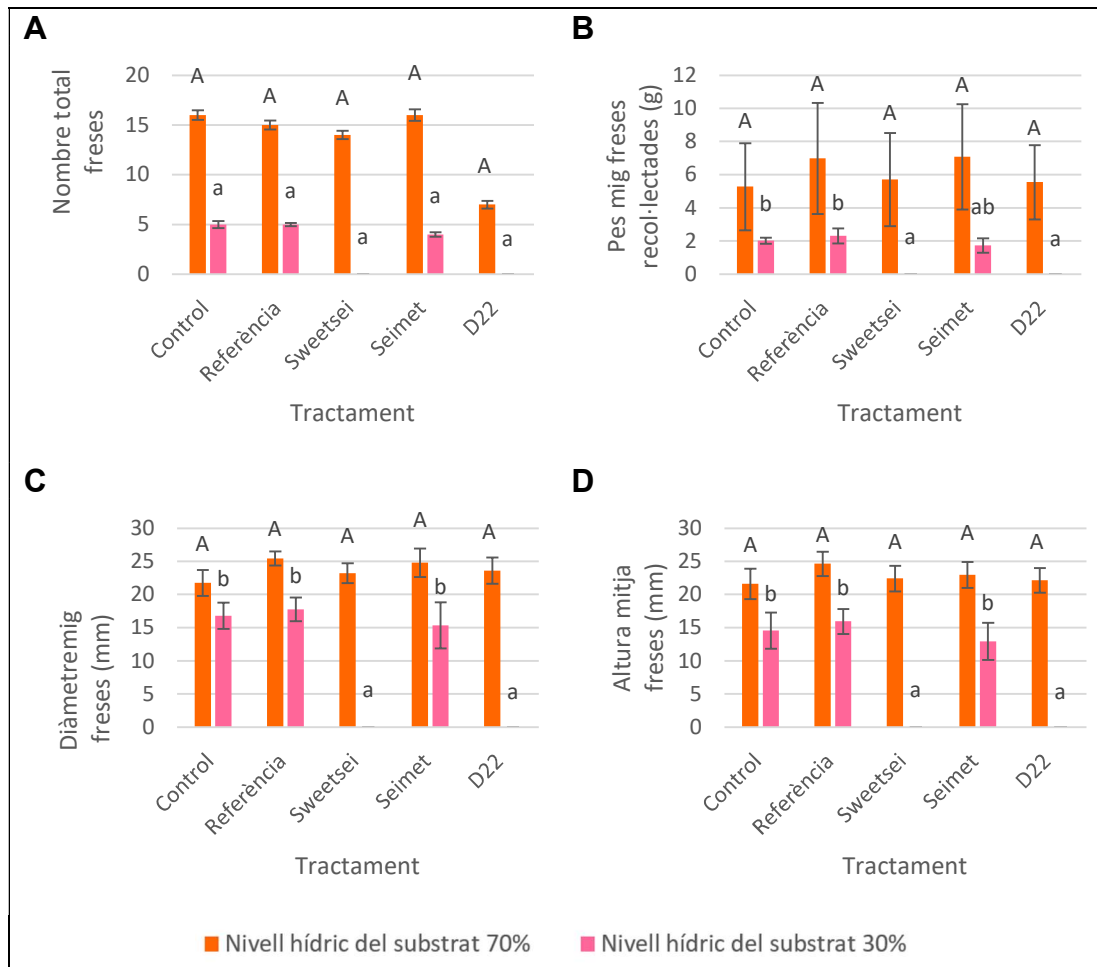


Figura 13. Efecte dels tractaments amb bioestimulants sobre (A) el nombre total de fruits recol·lectats, (B) el pes mig dels fruits recol·lectats, (C) el diàmetre mig dels fruits recol·lectats i (D) l'altura mitja dels fruits recol·lectats, al finalitzar l'assaig.

Els valors indicats son mitges amb SD (n=10). Les lletres majúscules diferents indiquen diferències significatives entre els tractaments a nivell hídic de 70% i les minúscules a nivell hídic de 30%, segons el test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

Per altra banda, en quan a les mesures de les fresa, s'hi troba un cas similar al descrit amb els pesos: en ambdós casos s'observen les diferències clares entre els dos estats hídrics del substrat i apareixen diferències entre els tractaments a causa de la falta de producció en estrés hídic per part dels tractaments amb Sweetsei i D22 (Il·lustració 13C i D). No obstant, en aquests dos paràmetres la dispersió de les dades no és tan elevada i, per tant, existeix la evidència estadística entre control, referència i Seimet, i Sweetsei i D22. Sí s'observa que a les dades de les plantes sense estrés hídic, no hi ha cap diferència estadística entre els diferents supostos.



Així doncs, cap tractament amb bioestimulant ha millorat la producció en nombre i tamany respecte al control, tant amb com sense estrés. És més, els tractaments amb Sweetsei i D22 han mancat la producció quan les plantes s'han vist sotmeses a una reducció hídrica.

### **4.3. RESULTATS FINALS**

Una volta obtinguts i estudiats tots els resultats, s'observa que en la major part dels paràmetres estudiats, en general, l'aplicació de bioestimulants no ha suposat una gran millora respecte el control en quant a productivitat. Això podria ser causa de dos motius, bé perquè els bioestimulants elegits no eren els més adequats per al cultiu, o bé perquè l'època no ha estat la més adequada per estudiar la productivitat de les plantes.

La fresa és un cultiu susceptible a l'estrés hídric, fet que ha generat efectes en gran part dels paràmetres estudiats, sobretot en aquells relacionats en la reproducció, tant sexual com vegetativa. Aquells supostos amb un estrés hídric han vist reduïts els resultats de nombre, pes, longitud i amplària dels fruits i, longitud i pes fresc dels estolons; a més, també s'ha vist reduït els continguts hídrics de totes les parts de les plantes i els pesos frescos de l'arrel i les fulles, però no els pesos secs, fet que indica que la reducció dels pesos frescos es deguda principalment a la deshidratació. Així doncs, clar queda que la disponibilitat hídrica al sol és un factor limitant per al cultiu.

En quant a l'efecte per l'aplicació de bioestimulants, ha sigut poc notori, no obstant, entre els supostos amb 70% d'humitat del substrat sols s'han trobat diferències significatives positives respecte el control als paràmetres pes fresc i pes sec de les fulles quan s'ha tractat amb el bioestimulant Seimet. Igualment, s'han trobat augments no significatius per al pes fresc i sec de les fulles quan s'ha tractat amb D22 i en el contingut hídric de les arrels amb els tractaments de Seimet i D22.

Per altra banda, amb els supostos amb el 30% d'humitat del substrat no s'ha trobat cap diferència positiva significativa per a cap tractament en ningun dels paràmetres estudiats. No obstant, sí s'han trobat augments no significatius al pes sec de les fulles amb tractament del bioestimulant D22, al contingut hídric dels estolons quan s'ha tractat amb Seimet i amb D22 i, també hi ha un augment no significatiu al pes sec de les arrels per al tractament amb el bioestimulant de referència.

En quant als fruits, els resultats no han estat concloents degut al escàs nombre de freses recol·lectades en tots els supostos, degut a les altes temperatures de l'hivernacle en estiu, època no òptima per a la producció de freses en la localització on s'ha realitzat el treball.

#### 4.4. DISCUSSIÓ

Els resultats obtinguts en aquest treball contrasten amb molts altres estudis realitzats al voltant dels bioestimulants, tant per al cultiu en el que s'ha treballat en aquesta ocasió com en altres tipus de plantes (Calvo et al., 2014). Igualment, des de un punt de vista del tipus de producte utilitzat també contrasta, ja que existeixen estudis que demostren que la utilització de bioestimulants augmenten el rendiment i qualitat del cultiu (Alegría, 2015), reduïxen la necessitat de fertilitzants (Ramos et al., 2013), ajuden a l'adaptació a estrés (Rojas et al., 2012), milloren l'absorció de nutrients (Halpern et al., 2014), etc.

Per al cultiu de la fresa en aquest estudi no s'han trobat millores en quant al rendiment per a cap dels bioestimulants utilitzats, amb i sense estrés hídric. En canvi, Kirschbaum et al. (2019) sí obtingueren millora de rendiment tant en pes com en nombre de fruits amb l'ús de bioestimulant, no obstant, amb un producte a base d'àcids húmics i fúlvics. Igualment Huachi (2019), amb aplicacions de bioestimulants a base de compostos inorgànics va aconseguir una millora en el tamany dels fruits i del rendiment del cultiu. Per altra banda, Veliz (2021) amb l'aplicació de cinc bioestimulants va aconseguir millores de rendiment i tamany del fruit en el cultiu de la fresa, però, els millors resultats se van obtenir amb un producte a base d'extractes vegetals i no amb un basat en hidrolitzats de proteïnes.

Per altra banda, si es comparen els resultats obtinguts en aquest treball amb altres estudis amb productes similars però cultius diferents amb i sense estrés hídric, els resultats finals també disten. Per una banda, Colla et al. (2014) mostraren com la utilització de hidrolitzats de proteïnes va millorar l'absorció de nitrogen i, per tant, el rendiment del cultiu. Igualment, Idro (2022) en el cultiu de la cirera demostrà que amb la utilització d'un bioestimulant a base de diformilurea és possible disminuir el nivell d'estrés del cultiu, però, després de la collita. Finalment, Shahrajabian et al. (2022) van provar com els aminoàcids poden ser útils per a la defensa contra l'estrés i per augmentar l'absorció de nutrients i, també, com els hidrolitzats de proteïnes tenen capacitat per augmentar el rendiment del cultiu, sobretot en condicions d'estrés.

Així doncs, amb aquests resultats es pot demostrar que per al cultiu de la fresa els bioestimulants a base d'hidrolitzats de proteïnes i altres compostos que contenen nitrogen no són la millor opció, ja que existeixen altres tipus de productes que sí aconseguen millorar la producció de fruits i, a més, es demostra que els bioestimulants utilitzats en aquest treball sí compleixen la millora de producció en altres cultius, amb i sense condicions d'estrés.

## 5. CONCLUSIONS

Havent analitzat totes les dades i extraient els resultats, es conclou el següent:

- La fresa és un cultiu susceptible a l'estrés hídric, la disponibilitat hídrica al sòl és un factor limitant per al cultiu.
- El tractament amb el bioestimulant Seimet en el substrat al 70% d'humitat va augmentar el pes fresc i sec de les fulles.
- Els tractaments amb bioestimulants no van atenuar l'efecte de l'estrés hídric.
- L'època de realització de l'assaig no va ser l'òptima per al cultiu, es recomana repetir-lo en una època més idònia amb millors condicions climàtiques.
- Es recomana repetir l'assaig sols amb plantes amb nivell hídric del substrat al 70%, per obtenir informació més rellevant sobre l'efecte dels bioestimulants en el cultiu.
- Es recomana realitzar l'assaig amb altres categories de bioestimulants, per comprovar la idoneïtat amb el cultiu.

## BIBLIOGRAFÍA

ALEGRÍA, M. (2015). Efecto de un bioestimulante en el rendimiento y calidad de *Fragaria vesca* L. Var. Aromes en quirihuc, Laredo. Tesis. La Libertad: Universidad Nacional de Trujillo.

BABALOLA, O. (2010). Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters*, vol 32, p. 1559-1570.

BATLER, M (2013). Researchers discover first use of fertilizer. *Science*, n. 24387 < <https://www.science.org/content/article/researchers-discover-first-use-fertilizer>> [Consulta: 27 de diciembre de 2022]

CALVO, P., NELSON, L., KLOPPER, J. W. (2014). Agricultural uses of plant bioestimulants. *Plant and Soil*, vol. 383, p. 3-41.

COLLA, G., NARDI, S., CARDARELLI, M., ERTANI, A., LUCINI, L., CANAGUIER, R., RAUPHAEL, Y. (2015a). Protein hydrolysates as bioestimulants in horticulture. *Scientia Horticulture*, vol. 196, p. 28-38.

COLLA, G., RAUPHAEL, Y., CANAGUIER, R., SVECOVA, E., CARDARELLI, M. (2014). Bioestimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in Plant Science*, vol. 5, art. 448.

COLLA, G., RAUPHAEL, Y., DI MATTIA, E., EL-NAKHEL, C., CARDARELLI, M. (2015b). Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a bioestimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 95, p. 1706-1715.

DEAN, F.W. (2000). *Diformylurea and reaction products of urea and carboxylic acids*. Patent de Estats Units. Núm. 6.040.273, doc. US6040273.

DU JARDIN, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, vol. 196, p. 3-14.

DU JARDIN, P. (2012). *The science of plant bioestimulants. - A bibliographic analysis: final report*. Ad hoc Study Report to the European Commission. Unión europea, Bruselas, Bélgica, 2012.

EL HADRAMI, A., ADAM, L., EL HADRAMI, I., DAAYF, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, vol. 8(4), p. 968-987.

CERONI, M. (2012). Perú, el país de las oportunidades perdidas en ciencia: el caso de los fertilizantes. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, vol. 78, n. 2, p. 144-152.

ESCALANTE, E (2020). La agricultura mundial, en la cuerda floja de los fertilizantes químicos. *El Salto Diario*. <<https://www.elsaltodiario.com/agricultura/agricultura-mundial-cuerda-floja-fertilizantes-quimicos>> [Consulta: 27 de diciembre de 2022]

ESPINOSA, A.A., HERNÁNDEZ, R.M., GONZÁLEZ, M. (2020). Extractos bioactivos de algas marines como bioestimulantes del crecimiento y la protección de las plantas. *Bioteconología vegetal*, vol. 20, n. 4, p. 257-282.

EUROSEMILLAS (2023). Camarosa <<https://www.eurosemillas.com/es/variedades/fresa/item/99-camarosa.html>> [Consulta: 15 de febrer de 2023].

FLEMING, T.R., FLEMING, C.C., LEVY, C.C.B., REPISO, C., HENNEQUART, F., NOLASCO, J.B., LIU, F. (2019). Biostimulants enhance growth and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* and exhibit chemical priming action. *Annals of Applied Biology*. vol. 174, pag. 153–165.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION (FAO) (2009). *2050: es esencial una mayor inversión en investigación agrícola*. Madrid. <[https://www.fao.org/fileadmin/templates/faoespana/esp\\_comunicados/2009/71.pdf](https://www.fao.org/fileadmin/templates/faoespana/esp_comunicados/2009/71.pdf)> [Consulta: 16 de gener de 2023].

GARCÍA, C. (2022). Nuevo Horizonte para los bioestimulantes en Europa. *Valencia Fruits*. num. 2.990, p. 6-7.

HALPERN, M, BAR-TAL, A., OFEK, M., MINZ, D., MULLER, T., YERMIYAHU, U. (2014). Chapter two- The use of bioestimulants for enhancing nutrient uptake. *Advances in agronomy*, vol. 130, p. 141-174.

HUACHI, D. J. (2019). Evaluación de dos bioestimulantes en el cultivo de la fresa (*Fragaria annanasa*) variedad Albión californiana. *Projecte final de grau*. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.

IDRO, F. B. (2022). Evaluación de bioestimulantes como herramienta de mitigación al estrés ambiental sobre las variables de estado hídrico e intercambio gaseoso en plantas de Cerezo dulce (*Prunus avium* L.) cv. Santana. *Tesis*. Chile: Universidad de Talca.

JINDO, K., MARTIM, S.A., NAVARRO, E. C., AGUILAR, N. O., CANELLAS, L. P. (2012). Root growth promotion by humic acids from composed and non-composed urban organic wastes. *Plant and Soil*, vol. 353, p. 209-220.

KHAN, W., RAYIRATH, U.P., SUBRAMANIAN, S., JITHESH, M.N., RAYORATH, P., HODGES, D.M., CRITCHLEY, A.T., CRAIGIE, J.S., NORRIE, J, PRIHIVIRAJ, B. (2009). Seaweed extracts as bioestimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulations*, vol. 28, p. 386-399.

KIRSCHBAUM, D. S., HEREDIA, A. M., FUNES, C. F., QUIROGA, R. J. (2019). Effects of bioestimulant Applications on strawberry crop yield and quality. *Horticultura Argentina*, vol. 38, p. 25-40.

LÓPEZ, J., PELAGIO, R., HERRERA, A. (2015). Trichoderma as bioestimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulture*, vol. 196, p. 109-123.

LÓPEZ, S. (2017). *Cultivos hortícolas al aire libre*. Ed: Cajamar, p. 667-700.

NILSEN, E., ORCUTT, D.M. (1996). *The physiology of plants under stres. Abiotic factors*. New York: Wiley.

OSORIO, O. (2008). *Influencia de tratamientos térmicos en la calidad y estabilidad del puré de fresa (Fragaria x ananassa, cv Camarosa)*. Valencia. <<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3041/tesisUPV2782.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> [Consulta: 15 febrer de 2023].

PAZOS, L.A., MARÍN, V., MORALES, Y.E., BAEZ, A., VILLALOBOS, M.A., PÉREZ, M., MUÑOZ, J. (2016). Uso de microorganismes beneficiosos para reducir los daños causados por la revolucion verde. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, vol. 3, n. 7, p. 72-85.

PILON-SMITS, E., QUINN, C., TAPKEN, W., MALAGOLI, M., SCHIAVON, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 12(3), p. 267-274.

PICHYANGKURA, R., CHADCHAWAN, S. (2015). Bioestimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulture*, vol. 196, p. 49-65.

RAMOS, L., AROZARENA, N., REYNA, Y., TELO, L., RAMÍREZ PEÑA, M., LESCAILLE, J., MARTÍN, G. (2013). Hongos micorrízicos arbusculares, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megatherium* y FitoMas-E: una alternativa eficaz para la reducción del consumo de fertilizantes minerales en *Psidium guajava*, L. var. Enana Roja cubana. *Cultivos Tropicales*, vol. 34, no. 1, p. 5-10.

ROSE, M.T., PATTI, A.F., LITTLE, K.R., BROWN, A., ROY JACKSON, W., CAVAGNARO, T. R. (2014). A meta-analisis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Advances in Agronomy*, vol. 124, p. 37-89.

ROJAS, D., MORENO, A., PARDO, S., OBANDO, M., RIVERA, D., BONILLA, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, vol. 61, p. 264–72.

SARABIA, M., MADRIGAL, R., MARTÍNEZ, M., CARREÓN, Y. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas*, vol. 12, p. 65-71.

SHAHRAJABIAN, M. H., CHENG, Q., SUN, W. (2022). The effects of amino acids, phenols and protein hydrolysates as bioestimulants on sustainable crop production and alleviated stress. *Recent Patents on Biotechnology*, vol. 16, n. 4, p. 319-328.

SHANKER, A., MAHESWARI, M., YADAV, S., DESAI, S., BHANU, D., ATTAL, N., VENKATESWARLU, B. (2014). Drought stress responses in crops. *Functional & Integrative Genomics*, vol. 14, p. 1-22.

SIDDIQUI, Z.A., AKHTAR, M. S., FUTAI, K. (2008). *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Alemania: Springer

SIMARD, S., BEILER, K., BINGHAM, M., DESLIPPE, J., PHILIP, L., TESTE, F. (2012). Mycorrhizal networks: mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biology Reviews*, vol. 26, p. 39-60.

SIGNER, S., HELMY, Y., KARAS, A., ABOU-HADID, A. (2003). Men *Acta Horticulturae*, vol. 614, p. 605-611.

TOLEDO, L.E., RAVELO, K. (2010). Los biofertilizantes a base de hongos. Una alternativa para un modelo agrícola conservacionista. *Ecoportal*. <[https://www.ecoportal.net/temas-especiales/suelos/los\\_biofertilizantes\\_a\\_base\\_de\\_hongos\\_una\\_alternativa\\_para\\_un\\_modelo\\_agricola\\_conservacionista/](https://www.ecoportal.net/temas-especiales/suelos/los_biofertilizantes_a_base_de_hongos_una_alternativa_para_un_modelo_agricola_conservacionista/)> [Consulta: 20 de gener de 2023].

UNIÓ EUROPEA. Reglamento (UE) 2019/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de junio de 2019, por el que se establecen disposiciones relativas a la comercialización de los productos fertilizantes UE y se modificando los Reglamentos (CE) nº 1069/2009 y (CE) nº 1107/2009 y se deroga el Reglamento (CE) nº 2003/2003. *DOUE*, 25 de juny de 2019, núm. 170, pag. 1-114.

VACHERON, J., DESBROSSES, G., BOUFFAUD, M. L., TOURAINE, B., MOËNNE-LOCCOZ, Y., MULLER, D., LEGENDRE, L., WISNIEWSKI-DYÉ, F., PRINGENT-COMBARET, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root System functioning. *Frontiers in Plant Science*, vol. 4, p. 1-19.

VELIZ, G. J. (2021). Efectos de estimulantes organicos en el rendimiento de *Fragaria ananassa* Duch, "fresa" variedad Chandler en el Valle de Chancay. *Tesis*. Perú: Universidad nacional José Faustino Sánchez Carrión.

ZHANG, X., SCHMIDT, R.E. (1997). The impact of growth regulators on the  $\alpha$ -tocopherol status in water-stressed *Poa pratensis* L. *International Turfgrass Society Research Journal*, vol. 8, p. 1364-1371.