



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN Y ANTAGONISMO *IN VITRO* DE
BACTERIAS ASOCIADAS A FRUTOS DE CACAO
(*Theobroma cacao* L.) EN LA PROVINCIA DE ORELLANA

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA:

YOLANDA BEATRIZ TENESACA CHULLCA

Riobamba – Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

**CARACTERIZACIÓN Y ANTAGONISMO *IN VITRO* DE
BACTERIAS ASOCIADAS A FRUTOS DE CACAO (*Theobroma
cacao* L.) EN LA PROVINCIA DE ORELLANA**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: YOLANDA BEATRIZ TENESACA CHULLCA

DIRECTOR: Ing. PABLO ISRAEL ÁLVAREZ ROMERO PhD.

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, Yolanda Beatriz Tenesaca Chulca

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

Yo, Yolanda Beatriz Tenesaca Chullca, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 13 de diciembre de 2023

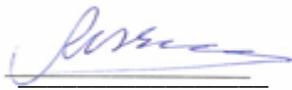
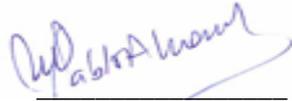


Yolanda Beatriz Tenesaca Chullca

035021741-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
CARRERA AGRONOMÍA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **CARACTERIZACIÓN Y ANTAGONISMO *IN VITRO* DE BACTERIAS ASOCIADAS A FRUTOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN LA PROVINCIA DE ORELLANA**, realizado por la señorita: **YOLANDA BEATRIZ TENESACA CHULLCA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Rosa del Pilar Castro Gómez, PhD PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2023-12-13
Ing. Pablo Israel Álvarez Romero, PhD DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-12-13
Ing. Norma Soledad Erazo Sandoval, PhD ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2023-12-13

DEDICATORIA

El presente trabajo dedicó a Dios, a las personas que me dieron la vida y que me han inculcado muchos valores, Ángel Tenezaca y Mercedes Chullca, sus bendiciones a diario a lo largo de mi vida me protegen y me ha llevado por el camino del bien. A mis herman@s Rosa y Luis, pero de una manera muy especial a mi hermanita Nancy Tenesaca que me ha brindado apoyo incondicional en momentos adversos y buenos, por nunca dejarme sola y estar ahí cuando más lo necesite. A mi sobrina Noemí Naula por compartir momentos de alegría y mucha felicidad, espero verte pronto y abrazarte. A mi pareja por entenderme en todo momento, por brindarme un apoyo incondicional en mi vida, por ser una fuente de inspiración y motivación, por creer en mi cuando muchas veces quería darme por vencida. Todos mis logros se los debo a ellos, que han sido mi razón de seguir adelante y me motivaron constantemente para alcanzar mis sueños, mil gracias.

Yolanda

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios el ser supremo, por darme vida, salud, sabiduría y ser ese pilar fundamental en mi vida que me permite seguir adelante. A mis padres, hermanas, hermano, abuelita y tío (Luis) quienes me apoyaron y confiaron en mi para seguir adelante, eh ir cumpliendo cada uno de mis anhelos. De manera muy especial agradezco al Ing. Pablo Álvarez, por permitir realizar esta investigación, por guiarme y corregir, mi gratitud infinita. A la Ing. Norma Erazo, por su asesoría en el desarrollo de este trabajo de investigación. Al Ing. Álvaro Rivera y Ing. María Fernanda, por su tiempo y ayuda en cada uno de los momentos. De igual manera agradezco a mis amigos por sus consejos y ocurrencias durante todos los años compartidos, a cada uno de ustedes mil gracias.

Yolanda

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Objetivos.....	2
1.2.1. <i>Objetivo general</i>.....	2
1.2.2. <i>Objetivos específicos</i>.....	2
1.3. Justificación.....	2
1.4. Hipótesis.....	3
1.4.1. <i>Hipótesis nula</i>.....	3
1.4.2. <i>Hipótesis alternativa</i>.....	3

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Bacterias como agente de control biológico.....	4
2.1.1. <i>Generalidades</i>.....	4
2.1.2. <i>Principales grupos bacterianos</i>.....	5
2.1.2.1. <i>Cocos</i>.....	5
2.1.2.2. <i>Bacilos</i>.....	5
2.1.2.3. <i>Espirilos</i>.....	5
2.1.3. <i>Topografía de la colonia</i>.....	6
2.2. Moniliasis.....	7
2.2.1. <i>Generalidades</i>.....	7
2.2.1.1. <i>Agente causal</i>.....	7

2.2.2.	<i>Taxonomía</i>	7
2.2.3.	<i>Importancia</i>	8
2.3.	Cacao (<i>Teobroma cacao L.</i>)	8
2.3.1.	Generalidades del cultivo de cacao	8
2.3.1.1.	<i>Origen</i>	8
2.3.1.2.	<i>Historia</i>	9
2.3.2.	<i>Taxonomía</i>	9
2.3.3.	<i>Descripción morfológica</i>	10
2.3.4.	<i>Importancia del cacao en el Ecuador</i>	10
2.3.5.	Principales enfermedades	11
2.3.5.1.	<i>Escoba de bruja</i>	11
2.3.5.2.	<i>Moniliasis</i>	11
2.3.5.3.	<i>Mazorca negra, pudrición parda o <i>Phytophthora</i></i>	12
2.3.5.4.	<i>Mal de machete</i>	12
2.3.5.5.	<i>Muerte regresiva y pudrición negra o carbón de las mazorcas</i>	12
2.3.6.	Variedades de cacao en el Ecuador	13
2.3.6.1.	<i>Nacional o arriba</i>	13
2.3.6.2.	<i>CCN-51</i>	13
2.3.6.3.	<i>Cacao Sacha</i>	14
2.3.6.4.	<i>Super árbol</i>	14

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	15
3.1.	Materiales y métodos	15
3.1.1.	Características del lugar	15
3.1.1.1.	<i>Localización</i>	15
3.1.1.2.	<i>Ubicación geográfica</i>	16
3.1.2.	Materiales y equipos	16
3.1.2.1.	<i>Materiales de oficina</i>	16
3.1.2.2.	<i>Materiales de laboratorio</i>	16
3.1.2.3.	<i>Materiales biológicos</i>	17
3.1.2.4.	<i>Equipos de oficina</i>	18
3.1.2.5.	<i>Equipos de laboratorio</i>	18
3.1.3.	Reactivos	18
3.2.	Metodología	18

3.2.1.	<i>Operación de las variables</i>	18
3.2.1.1.	<i>Variable dependiente</i>	18
3.2.1.2.	<i>Variable independiente</i>	18
3.2.2.	<i>Aislamiento de bacterias en mazorcas de cacao</i>	19
3.2.3.	<i>Preparación de medios</i>	19
3.2.4.	<i>Reactivación de bacterias</i>	19
3.2.5.	<i>Purificación de bacterias</i>	20
3.2.6.	<i>Cultivos puros</i>	21
3.2.7.	<i>Caracterización cultural de diferentes colonias de bacterias</i>	22
3.2.8.	<i>Extracción de ADN genómico de las bacterias</i>	23
3.2.9.	<i>PCR con primers</i>	26
3.2.10.	<i>Electroforesis</i>	27
3.2.11.	<i>Secuenciación del producto de PCR</i>	28
3.2.12.	<i>Siembra dual</i>	28
3.2.13.	<i>Variable evaluada</i>	29
3.2.13.1.	<i>Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial</i>	29
3.2.13.2.	<i>Tasa de crecimiento micelial <i>Moniliophthora roreri</i> H.C Evans</i>	29
3.2.14.	<i>Diseño experimental</i>	29

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	31
4.1.	Caracterización cultural de las diferentes colonias de bacterias	31
4.1.1.	<i>Caracterización molecular de las bacterias</i>	38
4.2.	Antagonismo <i>Moniliophthora roreri</i> vs bacterias	40
4.2.1.	<i>Respuesta de inhibición para el factor A: Cepas de <i>M.roreri</i> (C8, C10, C18)</i>	41
4.2.2.	<i>Respuesta de inhibición para el factor B: Bacterias</i>	42
4.2.3.	<i>Respuesta de inhibición para el factor C: Medio (V8 compuesto y KADO 523)</i> ...	44
4.2.4.	<i>Respuesta de inhibición para el factor A por el factor B</i>	45
4.2.5.	<i>Respuesta de inhibición para el factor A por el factor C</i>	47
4.2.6.	<i>Respuesta de inhibición para el factor B por el factor C</i>	49
4.2.7.	<i>Respuesta de inhibición para el factor A por el factor B por el factor C</i>	50
4.3.	Discusión	53

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	57
5.1.	Conclusiones	57
5.2.	Recomendaciones	59

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1:	Características de Cocos	5
Tabla 2-2:	Características de Bacilos	5
Tabla 2-3:	Clasificación taxonómica.....	7
Tabla 2-4:	Taxonomía del cacao	9
Tabla 2-5:	Características morfológicas del cacao	10
Tabla 3-1:	Características geográficas de la zona	16
Tabla 3-2:	Cepas de <i>Moniliophthora roreri</i> utilizadas en el estudio.....	17
Tabla 3-3:	Cepas de bacterias utilizadas en el estudio	17
Tabla 3-4:	Perfil térmico para PCR.....	26
Tabla 3-5:	Primers usados para identificación molecular basada en el análisis del ARNr 16S	27
Tabla 4-1:	Resumen de la caracterización cultural de las bacterias	37
Tabla 4-2:	Identificación molecular mediante análisis BLASTn de las cepas de bacterias ..	39
Tabla 4-3:	Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición de <i>M.roreri</i> vs bacterias...	40
Tabla 4-4:	Prueba de Tukey al 5% del factor A (Cepas <i>Moniliophthora roreri</i> .).....	42
Tabla 4-5:	Prueba de Tukey al 5% del factor B (Cepas bacterianas).....	43
Tabla 4-6:	Prueba de Tukey al 5% del factor C (medio de cultivo).....	45
Tabla 4-7:	Prueba de Tukey al 5% de la interacción factor A por el factor C.....	48

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1:	Características de colonias	6
Ilustración 3-1:	Ubicación del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales-ESPOCH.....	15
Ilustración 3-2:	Reactivación de bacterias	20
Ilustración 3-3:	Purificación de bacterias	21
Ilustración 3-4:	Obtención de cultivos puros	22
Ilustración 3-5:	Caracterización cultural de las colonias de bacterias	23
Ilustración 3-6:	Extracción de ADN genómico de las bacterias	24
Ilustración 3-7:	Procedimiento de la extracción	25
Ilustración 3-8:	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	26
Ilustración 3-9:	Electroforesis.....	28
Ilustración 4-1:	Caracterización cultural de las bacterias	32
Ilustración 4-2:	Cepas de <i>Moniliophthora roreri</i>	41
Ilustración 4-3:	Porcentaje de inhibición de las cepas de <i>M.roreri</i>	41
Ilustración 4-4:	Bacteria <i>Mammaliicoccus</i>	42
Ilustración 4-5:	Porcentaje de inhibición de las bacterias.....	43
Ilustración 4-6:	Antagonismo en medio KADO 523 (A) y medio V8 modificado (B)	44
Ilustración 4-7:	Porcentaje de inhibición de acuerdo con el medio KADO 523 y V8 modificado.....	44
Ilustración 4-8:	Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor A (Cepa) por el factor B (Bacteria)	45
Ilustración 4-9:	Interacción con menor porcentaje inhibición del factor A (Cepa) por el factor B (Bacteria)	46
Ilustración 4-10:	Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor A (Cepa) por el factor C (Medio)	47
Ilustración 4-12:	Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor B (Bacteria) por el factor C (Medio).....	49
Ilustración 4-13:	Interacción con menor porcentaje inhibición del factor B (Bacteria) por el factor C (Medio).....	49
Ilustración 4-14:	Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor A (cepa) por el factor B (Bacteria) y por el factor C (Medio)	51

Ilustración 4-15: Interacción con menor porcentaje inhibición del factor A (cepa) por el factor B (Bacteria) y por el factor C (Medio) 51

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO
- ANEXO B:** CARACTERIZACIÓN DE LAS BACTERIAS
- ANEXO C:** CARACTERIZACIÓN MOLECULAR CON LA APLICACIÓN NCBI-BLASTN
- ANEXO D:** CRECIMIENTO DE LA CEPA C8 DE *Moniliophthora roreri* VS BACTERIAS EN MEDIO V8 MODIFICADO Y MEDIO KADO 523
- ANEXO E:** CRECIMIENTO DE LA CEPA C10 DE *Moniliophthora roreri* VS BACTERIAS EN MEDIO V8 MODIFICADO Y MEDIO KADO 523
- ANEXO F:** CRECIMIENTO DE LA CEPA C18 DE *Moniliophthora roreri* VS BACTERIAS EN MEDIO V8 MODIFICADO Y MEDIO KADO 523
- ANEXO G:** GELES REVELADOS EN ELECTROFORESIS CON PRIMERS 16S
- ANEXO I:** PRUEBA DE TUKEY AL 5% DE LA INTERACCIÓN FACTOR B POR EL FACTOR C
- ANEXO J:** PRUEBA DE TUKEY AL 5% DE LA INTERACCIÓN FACTOR A POR EL FACTOR B Y EL FACTOR C

RESUMEN

Se desconoce la diversidad y el potencial de antagonismo de bacterias asociadas a frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la provincia de Orellana, por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue estudiar la caracterización y antagonismo *in vitro* de bacterias asociadas a frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la provincia de Orellana. Se procesaron muestras provenientes de las localidades La Belleza, La Calumeña, INIAP EECA, Bajo Huiruno, Unión Milagreña y Tomebamba. En la caracterización cultural se determinó aspectos de las diferentes colonias y para la caracterización molecular, se realizó la extracción de ADN mediante el empleo kit OMEGA E.Z.N.A ® Bacterial DNA, la identificación molecular está basada en el análisis del ARNr 16S con primers 27f y 1492r y los productos de las PCR fueron secuenciados en la empresa MACROGEN COREA. Para confrontaciones se utilizó la técnica de siembra dual enfrentando *Moniliophthora roreri* como patógeno vs 12 cepas bacterianas como antagonistas en medio de cultivo V8 modificado y medio KADO 523. Los resultados obtenidos de la caracterización cultural se identificó colonias con forma circular o irregular; borde entero, lobulado u ondulado; elevación plana; pigmentación blanca o amarilla y en caracterización molecular presentaron siete géneros diferentes. En confrontaciones el mayor porcentaje de inhibición obtuvieron *M.roreri* de la cepa C10 del cantón Loreto, la bacteria B40 y el medio KADO 523. En conclusión, se presentaron géneros como: *Bacillus* sp, *Stenotrophomonas* sp, *Mammaliicoccus* sp, *Brucella* sp, *Achromobacter* sp, *Sphingobacterium* sp y *Brachybacterium* sp. El género *Bacillus* sp difiere en las diferentes localidades de la provincia de Orellana. La cepa C10, la bacteria *Bacillus* sp y en medio KADO 523 demostraron ser capaces de combatir y limitar el crecimiento del patógeno. Se recomienda utilizar las secuencias del ARN polimerasa (rpoB) como una herramienta alternativa para la identificación genotípica bacteriana.

Palabras clave: <CARACTERIZACIÓN>, <ANTAGONISMO>, <IN VITRO>, <BACTERIAS>, <ASOCIADAS>, <CACAO (*Theobroma cacao* L.) >, <ORELLANA (PROVINCIA)>.



20-12-2023

2274-DBRA-UPT-2023

SUMMARY

This investigation aimed to study the characterization and *in vitro* antagonism of bacteria associated with cocoa fruits (*Theobroma cacao* L.) Orellana province due to the diversity and antagonism potential of bacteria which is unknown. Samples from *La Belleza*, *La Calumeña*, INIAP EECA, *Bajo Huiruno*, *Unión Milagreña* and *Tomebamba* were processed. In the cultural characterization, aspects of the different colonies were determined and for the molecular characterization, DNA extraction was carried out using the OMEGA E.Z.N.A.® Bacterial DNA kit. Molecular identification was based on the analysis of 16S rRNA with primers 27f and 1492r and the PCR products were sequenced in the company MACROGEN COREA. For confrontations, the dual seeding technique was used, confronting *Moniliophthora roreri* as pathogen vs. 12 bacterial strains as antagonists in modified V8 culture medium and KADO 523 medium. The results obtained from the cultural characterization identified colonies with circular or irregular shape; whole, lobed, or wavy edge; flat elevation; white or yellow pigmentation and in molecular characterization they presented seven different genera. In confrontations, the highest percentage of inhibition was obtained by *M. roreri* of strain C10 from the Loreto canton, bacterium B40 and KADO 523 medium. It is concluded that *Bacillus* sp, *Stenotrophomonas* sp, *Mammaliicoccus* sp, *Brucella* sp, *Achromobacter* sp, *Sphingobacterium* sp and *Brachybacterium* sp. were present. The genus *Bacillus* sp is different in some places of Orellana province. Strain C10, *Bacillus* sp and *Bacillus* sp on KADO 523 medium were able to combat and limit the growth of the pathogen. It is recommended to use RNA polymerase (rpoB) sequences as an alternative tool for bacterial genotypic identification.

Keywords: <CHARACTERIZATION>, <ANTAGONISM>, <IN VITRO>, <BACTERIA>, <ASSOCIATED>, <COCOO (*Theobroma cacao* L.)>, <ORELLANA (PROVINCE)>.



Esthela Isabel Colcha Guashpa
0603020678

20-12-2023
2274-DBRA-UPT-2023

INTRODUCCIÓN

Ecuador ha tenido un crecimiento acelerado en el sector agrícola, con énfasis en el desarrollo de la industria del cacao (*Teobroma cacao* L.) y sus productos derivados. Este progreso ha sido impulsado por el uso de tecnología y otros factores, lo que ha permitido que el cacao se convierta en un producto de exportación a gran escala, generando ingresos y divisas significativas para el país (Vargas et al., 2022, pág. 2).

El cacao es una de las frutas que posee mayor demanda a nivel mundial debido a su gran valor de exportación. Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2023, págs. 9-23), la superficie plantada de cacao representa el 41,3 % del total en el país, donde la producción se concentra en la provincia de Los Ríos con el 30,9 %, Manabí 20,7%, Guayas 16,7%, Esmeraldas 15,0% y Otras provincias 25,4% entre ellas se encuentra la provincia de Orellana, siendo así la exportación de cacao fino o de aroma los más importantes.

En los últimos años, se ha evidenciado variedad y potencial de las bacterias endófitas que se asocian con las plantas (organismos que colonizan los tejidos de las plantas sin causar enfermedades). Estas bacterias se consideran agentes de biocontrol y promotores del crecimiento vegetal (Khan et al., 2020, págs. 103-120). Según Loor et al (2021, págs. 2-3) menciona que la utilización de bacterias endófitas en la agricultura presenta un enorme potencial para disminuir los impactos ambientales negativos ocasionados por el uso excesivo y sin control de agroquímicos.

Existen especies endófitas de los géneros *Bacillus*, *Enterobacter* y *Pseudomonas* son efectivas en la inhibición del crecimiento *in vitro* de microorganismos fitopatógenos, mientras que otras especies endófitas de los géneros *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Streptomyces* e *Isoptericola* mejoran el estrés a la sequía, el calor y la salinidad en diferentes cultivos. (Khan et al., 2020, págs. 103-120).

El género *Bacillus* spp. ha empezado a recibir interés como una opción para controlar las enfermedades del cacao, aunque su uso es menos frecuente que el de hongos antagonistas. Según Carvajal et al (2015, págs. 41-50), menciona que las especies *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus* y *B. cereus* exhibieron antagonismo contra los tres agentes patógenos principales del cacao, *Phytophthora* sp., *M. roreri* y *M. pernicioso*.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Se desconoce la diversidad y el potencial de antagonismo de bacterias asociadas a frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Provincia de Orellana.

1.2. Objetivos

1.2.1. *Objetivo general*

Estudiar la caracterización y antagonismo in vitro de bacterias asociadas a frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Provincia de Orellana.

1.2.2. *Objetivos específicos*

- Caracterizar fenotípica y molecularmente las bacterias asociadas a los frutos de cacao en la Provincia de Orellana.
- Estudiar el antagonismo de bacterias asociadas a frutos de cacao a *Moniliophthora roreri* H. C Evans.

1.3. Justificación

En la actualidad, la falta de información sobre las bacterias asociadas a frutos de cacao limita un desarrollo eficiente para el manejo de las diferentes enfermedades que atacan a los frutos. El cacao tiene una importancia notable en la economía del Ecuador, por ser uno de los productos de exportación y por establecer una fuente de empleo para un alto porcentaje de habitantes de los sectores rurales y urbanos. Entre los distintos riesgos que corre el productor cacaotero en la región, es el ataque de enfermedades y plagas a las plantaciones lo que resulta en pérdidas considerables. Esta investigación tiene por objetivo caracterizar las bacterias presentes en los Frutos.

1.4. Hipótesis

1.4.1. Hipótesis nula

La diversidad bacteriana asociada a frutos de cacao (*Theobroma cacao L.*) no difiere en las diferentes localidades de la Provincia de Orellana.

1.4.2. Hipótesis alternativa

La diversidad bacteriana asociada a frutos de cacao (*Theobroma cacao L.*) difiere en las diferentes localidades de la Provincia de Orellana.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Bacterias como agente de control biológico

2.1.1. Generalidades

En los últimos años, ha habido un creciente interés en emplear bacterias, especialmente *Bacillus* sp. y *Pseudomonas fluorescens*, para combatir las enfermedades del cacao. Aunque su uso ha sido menos explorado en comparación con los hongos antagonistas, se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* pueden colonizar las hojas de cacao, tanto como epífitas predominantes y también como endófitas (Khan et al., 2020, págs. 103-120).

La presencia de *Bacillus cereus* provocó una marcada reducción en la gravedad de la enfermedad cuando las hojas fueron infectadas con *Phytophthora capsici*. Es importante destacar que la supresión de *Phytophthora* por parte de *Bacillus cereus* solo ocurrió en hojas que no estaban previamente colonizadas antes de la aplicación de las bacterias, y esta supresión persistió en hojas más antiguas de las plantas que ya estaban colonizadas por las bacterias (Vera et al., 2018, pág. 84).

Carvajal et al (2015, págs. 41-50) estipula en una investigación sobre la utilización de bacterias formadoras de endosporas para combatir enfermedades del cacao, se descubrió que en *T. cacao* pueden coexistir diversas especies bacterianas formadoras de endosporas pertenecientes a distintos géneros. Algunas de las bacterias presentaron antagonismo contra los tres agentes patógenos del cacao, *P. capsici*, *M. roreri* y *M. pernicioso*.

Se ha evidenciado que las bacterias endófitas *Bacillus subtilis* y *Enterobacter cloacae*, que fueron aisladas del cacao, pueden colonizar de manera sistémica o estimular el crecimiento de las plántulas de cacao. Aunque el uso de bacterias en el control de enfermedades en el cacao aún se encuentra en una etapa inicial, los resultados interesantes presentados en los pocos documentos disponibles sugieren que merece una mayor atención. La implementación de bacterias para el control biológico de las enfermedades del cacao podría acarrear beneficios adicionales, como la reducción de los costos de producción o una mayor vida útil del producto de biocontrol (Vera et al., 2018, pág. 84).

2.1.2. Principales grupos bacterianos

2.1.2.1. Cocos

Presenta una forma redondeada u ovalada de los cocos permite que, al dividirse la célula bacteriana, estas puedan permanecer unidas a otras células después de la división. De esta forma, aunque estos tipos de bacterias sigan conservando siempre su independencia celular, formarán distintas agrupaciones como se puede observar en la siguiente tabla:

Tabla 2-1: Características de Cocos

Género	Plano de división	Característica
<i>Streptococcus</i>	Único	Diplococos o cocos en cadena
<i>Staphylococcus</i>	Múltiples	Agrupación de cocos en tétradas o racimos

Fuente: (Algorta, 2008, pág. 27).

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

2.1.2.2. Bacilos

Dentro del grupo de bacterias del tipo bacilo, es factible distinguir varios subtipos de bacterias en función de la longitud y estructura morfológica de sus células, como se puede observar en la siguiente tabla:

Tabla 2-2: Características de Bacilos

Género	Forma	Característica
<i>Cocobacilos</i>	Irregular	Bacilos cortos
<i>Bacillus</i>	Ondulados	Bacilos largos
<i>Bacillus</i>	Coma	Bacilos curvos
<i>Corynebacterium</i>	Letras chinas	Bacilos agrupados en filamento

Fuente: (Algorta, 2008, pág. 27).

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

2.1.2.3. Espirilos

La peculiar forma en espiral que define a las bacterias del grupo de los espirilos es claramente identificable a través del microscopio óptico, y permite distinguir diversos subgrupos según el número de vueltas y la estructura de estas espirales. Algunas pueden presentar una forma

helicoidal con una estructura rígida, mientras que otras adoptan una forma de tirabuzón, lo que les otorga una estructura más flexible. Este último tipo de morfología es característica de las bacterias espiroquetas, como se conocen comúnmente (Algorta et al., 2008, pág. 27).

2.1.3. Topografía de la colonia

- Forma: circular, irregular, filamentosa.
- Elevación: plana y extendida, elevada y limitada, umbilicada.
- Margen: entero, lobulado, desflechado, rizoide.

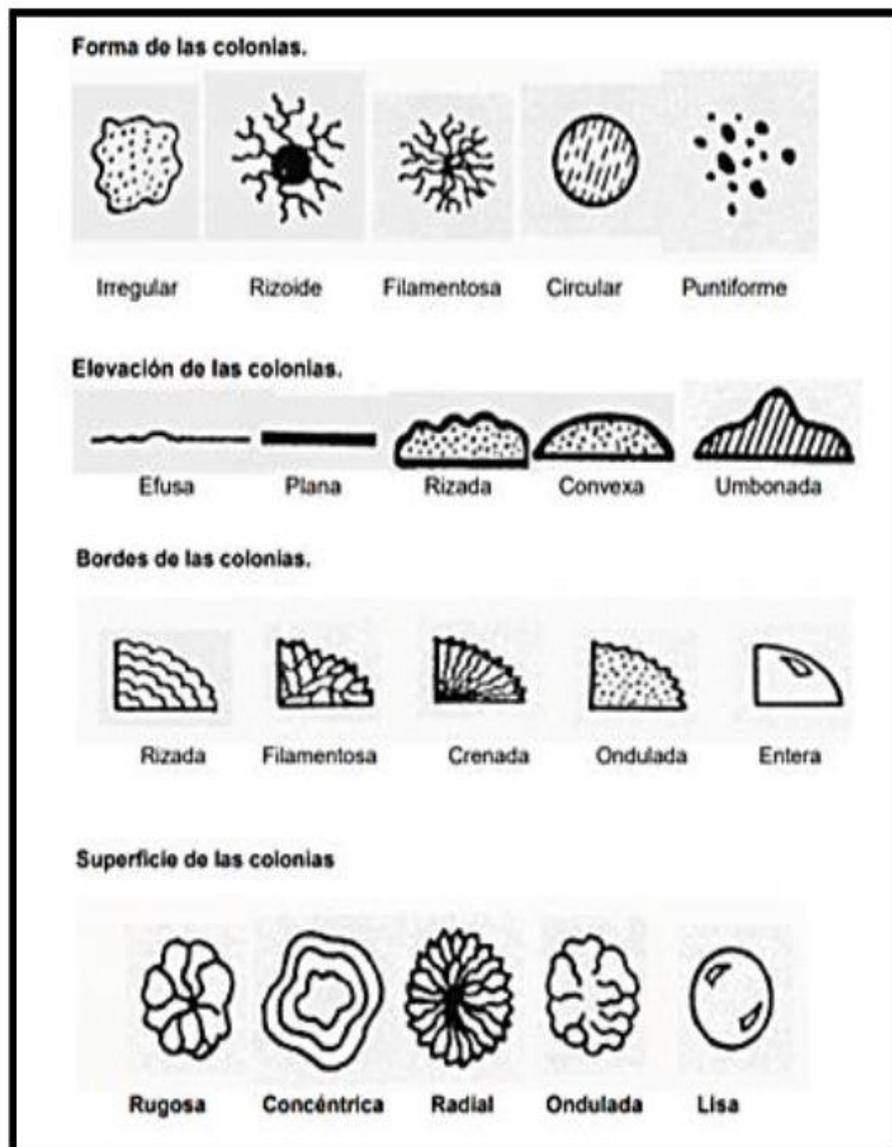


Ilustración 2-1: Características de colonias

Fuente: (Montelongo, 2012).

2.2. Moniliasis

2.2.1. Generalidades

Evans et al. (2003, pág. 476), mencionan que la moniliasis es una enfermedad que afecta exclusivamente al fruto del cacao y puede propagarse ampliamente cuando las plantaciones se encuentran en un estado de manejo deficiente, especialmente con exceso de sombra, falta de poda y una altura excesiva que dificulta la implementación de todas las prácticas de manejo, incluyendo la cosecha y la eliminación regular de los frutos afectados por la enfermedad. Por otro lado, Rorer en 1926, citado por Evans et al., quien describió que la moniliasis del cacao fue identificada inicialmente en Ecuador, Sudamérica, y desde entonces, durante casi un siglo, ha sido considerada como el lugar de origen de esta enfermedad (Evans et al., 2003, pág. 476).

2.2.1.1. Agente causal

El patógeno causante de la moniliasis es el hongo *M. roreri*, un hongo de la clase Deuteromicete (Imperfectos) y del Orden moniliales. Su estado perfecto (sexual) de la enfermedad aún no ha sido descubierto, lo que lleva a suponer que su reproducción se lleva a cabo únicamente de manera asexual a través de conidios. Hasta el momento, los conidios son las únicas estructuras (semillas) conocidas capaces de causar infección (Loo et al, 2021, págs. 2-3). Actualmente se sugiere la inclusión del hongo *M. roreri* en la clase Basidiomicete, especie *Crinipellis roreri*, var. *roreri* El hongo sólo ha sido encontrado atacando los frutos de los géneros *Theobroma* y *Herrania* (Evans et al., 2003, pág. 476).

2.2.2. Taxonomía

Según el Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI, la moniliasis se clasifica taxonómicamente en:

Tabla 2-3: Clasificación taxonómica

Reino:	Fungi
División:	Basidiomycota
Clase:	Agaricomycetes
Orden:	Agaricales
Familia:	Marasmiaceae
Género:	<i>Moniliophthora</i>
Especie:	<i>Moniliophthora roreri</i>

Fuente: (Schoch CL, et al., 2020).

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

2.2.3. Importancia

Esta enfermedad tiene consecuencias devastadoras en las regiones donde se manifiesta, ocasionando pérdidas que oscilan entre el 30% y el 100% de las cosechas, lo que lleva al abandono de muchas de las plantaciones afectadas. En Colombia y Perú, donde la moniliasis coexiste con la escoba de bruja, los productores la consideran como la principal limitante del cultivo. En la zona amazónica del norte de Ecuador, más del 40% de la producción se ve afectada, lo que representa una pérdida económica de alrededor de 20 millones de dólares al año (Pallazhco, 2021, pág. 20).

Según Pallazhco (2021, pág. 20), el método más recomendado para controlar la enfermedad denominada moniliasis es eliminar y destruir los frutos enfermos. Para evaluar su efectividad, se llevó a cabo esta práctica cultural junto con la aplicación de fungicidas durante los primeros tres meses del desarrollo de las mazorcas.

2.3. Cacao (*Theobroma cacao* L.)

2.3.1. Generalidades del cultivo de cacao

2.3.1.1. Origen

Theobroma cacao L es una especie perteneciente a la familia Malvaceae. El cacao tiene sus orígenes en América, aunque el lugar exacto de su origen no está claramente establecido, lo que sigue siendo motivo de debate en la actualidad. Algunos investigadores sugieren que el cultivo del cacao comenzó en México y América Central, mientras que los registros de los españoles indican que no encontraron el cultivo del cacao en América del Sur cuando llegaron al continente. Sin embargo, sí descubrieron que crecía de manera natural en muchos bosques a lo largo de los ríos Amazonas y Orinoco, así como en sus afluentes, donde todavía hoy se encuentran valiosos tipos genéticos de esta planta (Batista, 2009, pág. 10).

No obstante, investigaciones recientes han comprobado que al menos una variedad de cacao tiene sus orígenes en la alta Amazonia, donde ha sido cultivada y utilizada durante más de 5000 años. En el caso de Ecuador, la tradición del cacao es ancestral ya que, según registros de los españoles, al llegar a la costa del Pacífico, se encontraron con grandes árboles de cacao, lo que evidencia que antes de la llegada de los europeos, ya se tenía conocimiento sobre el uso de esta especie en la región costera (Batista, 2009, pág. 12).

2.3.1.2. Historia

Hace aproximadamente 2 000 años, los toltecas, aztecas y mayas llevaron a cabo la domesticación, cultivo y consumo del cacao. No obstante, investigaciones recientes sugieren que al menos una variedad de cacao tiene sus orígenes en la Alta Amazonía, hace unos 5 000 años. Al llegar los españoles a América, los granos de cacao se utilizaban como moneda y para preparar una exquisita bebida. Un siglo después, estas semillas fueron llevadas a Europa, donde se desarrolló una receta que incluía vainilla y azúcar. Fue solo a fines del siglo XIX, después de múltiples experimentaciones, que los suizos lograron producir el primer chocolate con leche, iniciando una industria mundial (Guerrero, 2018, págs. 47-50).

En la segunda mitad del siglo XVI, esta lucrativa actividad comercial atrajo el interés de empresarios originarios de Guayaquil, y para el año 1600, ya se habían realizado las primeras cosechas, siempre en las orillas de los afluentes río arriba de Guayaquil, lo que lo ha dado a conocer en el mundo como Cacao de Arriba. Aunque hay registros de que Ecuador ha estado produciendo cacao desde 1780, no fue hasta 1911 cuando se convirtió en uno de los principales exportadores. En la actualidad, la mayor parte del cacao exportado por Ecuador corresponde a una mezcla de las variedades Nacional y Trinitarios, que fueron introducidas en la década de 1930 y 1940, y se define como Complejo Tradicional (Guerrero, 2018, págs. 47-50).

2.3.2. Taxonomía

La clasificación completa del cacao, (*Theobroma cacao* L.) según El Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI se describe a continuación:

Tabla 2-4: Taxonomía del cacao

Reino:	Viridiplantae
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Malvales
Familia:	Malvaceae
Género:	<i>Theobroma</i>
Especie:	<i>Theobroma cacao</i> L.

Fuente: (Schoch CL, et al., 2020).

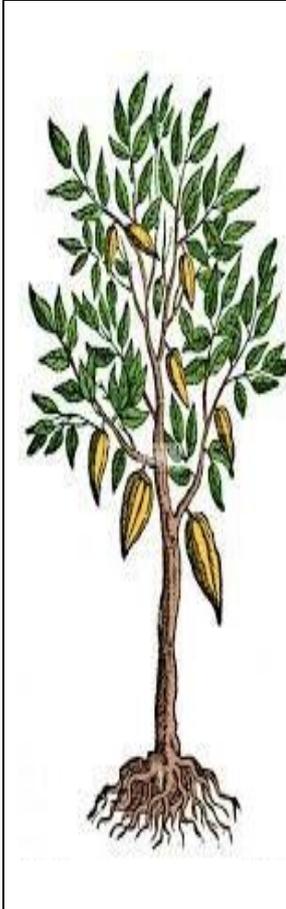
Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

2.3.3. Descripción morfológica

Según Dumble (2013, pág. 20), menciona que el cacao es un árbol de tamaño mediano, generalmente entre 5 y 8 metros, aunque puede llegar a alcanzar alturas de hasta 20 metros si crece sin restricciones bajo una intensa sombra. Su copa es densa y redondeada, con un diámetro de 7 a 9 metros. El tronco es recto y puede adquirir diversas formas, dependiendo de las condiciones del entorno en el que se desarrolle.

Se ha considerado el estudio de las características morfológicas más predominantes del cacao, mismas que son detalladas en la siguiente tabla:

Tabla 2-5: Características morfológicas del cacao

	Fruto. – Presenta variaciones en tamaño, color y forma, pueden tener una superficie lisa o acostillada, con forma elíptica y colores que van desde rojo, amarillo hasta café, los frutos se dividen en cinco celdas y contienen pulpa blanca, rosada o café, cada baya contiene de 20 a 40 semillas, las cuales pueden ser planas o redondeadas, y presentan colores que abarcan desde blanco hasta morado, con sabores que oscilan entre lo dulce y lo amargo.
	Flores. - son pequeñas y de color blanco, se agrupan en inflorescencias llamadas racimos o mazorcas. Cada mazorca puede contener de 20 a 50 flores, pero solo unas pocas llegan a desarrollarse en frutos.
	Hojas. - son grandes y lanceoladas, con un color verde oscuro brillante en la parte superior y más claro en la parte inferior. Las hojas son alternas en las ramas.
	Tallo. - es de naturaleza leñosa y puede llegar a tener dimensiones medianas o grandes, presenta una forma cilíndrica y recta, y su tamaño varía de acuerdo con el crecimiento y la edad de la planta. La corteza del tallo puede tener una textura rugosa y mostrar tonalidades que oscilan entre el marrón oscuro y el grisáceo.
	Raíz. - presenta una raíz principal con estructura pivotante y numerosas raíces secundarias, mayoritariamente ubicadas en los primeros 30 centímetros del suelo.

Fuente: (Dumble, 2013).

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

2.3.4. Importancia del cacao en el Ecuador

El cacao es un cultivo de gran importancia en Ecuador y representa un recurso social valioso, ya que está presente en la mayoría de las parcelas de los agricultores y fincas. Esto genera una

fuerza significativa de ingresos y la producción nacional del país se ha destacado por su excelente calidad. Sin embargo, dentro de Ecuador, el cacao no ha sido debidamente reconocido por su significado en la economía y por su impacto en la calidad de vida de los pequeños productores. Este cultivo posee un valor histórico destacado, ya que está relacionado con diversos procesos y brinda recursos a productores de distintas escalas, desde pequeños hasta grandes (ANECACAO, 2020).

En los últimos años, la exportación de cacao al extranjero ha adquirido un papel importante en la obtención de divisas, promoviendo la creación de empleo y aportando tanto a la balanza comercial como al Producto Interno Bruto (PIB). Sin embargo, la exportación de cacao en grano ha experimentado variaciones en los niveles de envío al extranjero, ya que otros países compiten en el mercado mundial ofreciendo el mismo producto a precios más bajos. No obstante, el cacao ecuatoriano se destaca por la alta calidad de su grano, su aroma y sabor, lo que le otorga una importante ventaja competitiva en el mercado internacional. Esto ha permitido mantenerse y obtener exportaciones de 315 toneladas en el año 2018 (ANECACAO, 2020).

2.3.5. Principales enfermedades

2.3.5.1. Escoba de bruja

En Ecuador, se detectó la presencia de la enfermedad conocida como "escoba de bruja" en 1918, y en la actualidad, puede afectar hasta el 80% de la producción de cacao. Durante su ataque a las mazorcas, puede asociarse con otras enfermedades como la monilla y la pudrición negra. Este hongo produce una estructura sexual llamada basidiocarpo, que crece sobre la escoba seca en forma de sombrillas de color rosa púrpura. Durante la noche, libera basidiósporas (esporas sexuales) que se dispersan mediante el viento y la lluvia. Las basidiósporas germinan en la superficie de la planta, en tejidos en crecimiento como cojinetes florales, frutos, hojas y ramas, penetrando a través de las estomas y formando un micelio que se ramifica intercelularmente dentro del huésped (Solís et al., 2021, pág. 4).

2.3.5.2. Moniliasis

La monilia es una enfermedad originada por el hongo *Moniliophthora roreri* H C Evans y es una afección endémica que se dirige de manera específica a las mazorcas de cacao. Se identificó por primera vez en Colombia en el año 1817 (Evans, 2016) y en Ecuador se la reportó en 1916, ocasionando pérdidas estimadas entre el 50 al 80 % del total de la producción anual. La

enfermedad se encuentra en América, afectando a los países productores de cacao a excepción de Brasil y República Dominicana en el Caribe. *Moniliophthora roreri* puede mantenerse viable en las mazorcas secas y momificadas que permanecen unidas al árbol durante un período de hasta nueve meses. Sin embargo, si estas mazorcas son cortadas y caen al suelo, la capacidad de las esporas para mantenerse vivas se reduce después de unos meses debido a la acción de microorganismos antagonistas que se encuentran en el suelo (Solis et al., 2021, pág. 7).

2.3.5.3. *Mazorca negra, pudrición parda o Phytophthora*

La mazorca negra o pudrición parda es provocada por el oomicete *Phytophthora* sp. A nivel mundial, es una de las enfermedades más agresivas que afecta al cacao, pudiendo causar pérdidas de hasta el 30% en la producción de cacao y la muerte anual del 10% de las plantas debido a cánceres en el tallo. Los síntomas iniciales en las mazorcas se presentan aproximadamente 30 horas después de la infección (ingreso de *Phytophthora*), mostrando pequeñas manchas acuosas en la superficie del fruto que posteriormente se vuelven oscuras y cubren toda la mazorca. De tres a cinco días después de la aparición de los primeros síntomas, las mazorcas enfermas se vuelven blandas y su interior se necrosa, generando un olor similar al de mariscos o pescado. En el exterior, se observa micelio blanco, poco compacto y superficial que recubre las mazorcas y produce los esporangios. Si la infección ocurre en mazorcas casi maduras, es posible que sus almendras estén libres de la enfermedad (Solis et al., 2021, pág. 8).

2.3.5.4. *Mal de machete*

Esta enfermedad es ocasionada por el hongo ascomiceto *Ceratocystis cacaofunesta*. En Ecuador, se identificó como una epidemia en la década de los 50, y cada año provoca la muerte de un número indeterminado de árboles, dependiendo de su susceptibilidad. *C. cacaofunesta* penetra en la planta a través de heridas causadas por herramientas, ataques de insectos perforadores o por causas naturales. Las plantas afectadas por el mal de machete muestran clorosis y marchitez en las hojas, seguido de un período de 2 a 4 semanas en el que las hojas se secan, permanecen adheridas a las ramas y la planta finalmente muere (Solis et al., 2021, pág. 10).

2.3.5.5. *Muerte regresiva y pudrición negra o carbón de las mazorcas*

Estas enfermedades son provocadas por el hongo *Lasiodiplodia theobromae*, el cual afecta a las mazorcas y puede combinarse con la monilia. El patógeno penetra a través de heridas no protegidas y tejidos en descomposición, causando necrosis en el interior de la planta y marchitez

en los brotes y ramas terminales. Un síntoma común de su ataque es la aparición de "puntas desnudas". También se ha observado que afecta las raíces (Solis et al., 2021, pág. 11).

El hongo *L. theobromae* tiene capacidad para infectar durante todo el año. En las mazorcas, la enfermedad comienza como una mancha de color negro que se expande rápidamente, cubriéndola con las estructuras reproductivas del hongo (conidios de color negro) en aproximadamente ocho días, similar a polvo de carbón, especialmente si hay heridas presentes. La fuente inicial de inóculo son las mazorcas enfermas y momificadas que permanecen en la planta. A partir de allí, los conidios son dispersados por el viento, el agua, los implementos de trabajo o los insectos perforadores del tronco (Solis et al., 2021, pág. 11).

2.3.6. Variedades de cacao en el Ecuador

2.3.6.1. Nacional o arriba

Este tipo de cacao es conocido como fino de aroma y es el producto emblemático y tradicional de Ecuador. Se encuentra principalmente en las provincias de Guayas y Los Ríos, en la región de la Costa del país, y su cultivo se limita a Ecuador debido a las condiciones climáticas específicas que requiere. Las mazorcas de este cacao son de forma amelonada, grandes y casi ovales, con una cáscara gruesa y de color verde. Las semillas varían en tamaño de medianas a grandes y presentan tonalidades que van desde el violeta al morado. El cacao exhibe notas florales y frutales, lo cual lo distingue como "cacao fino de aroma". Esta variedad de cacao es ampliamente exportada debido a su alta reputación a nivel mundial por su exquisito sabor y calidad. Además, es única, ya que solo se cultiva en Ecuador, lo que ha llevado a que el Cacao de Arriba tenga una denominación de origen, otorgándole protección a nivel global (Sosa, 2020, págs. 22-23).

2.3.6.2. CCN-51

El Cacao CCN-51, también conocido como Ramilla en Ecuador, es un híbrido de tres variedades: trinitario, nacional y oriente, originario de la región amazónica del país. Gracias a esta combinación de variedades, se considera uno de los cacaos más productivos a nivel mundial. Durante su desarrollo y maduración, los frutos adquieren una tonalidad rojiza, y su perfil de aroma y sabor difiere significativamente del cacao fino de aroma. Sin embargo, esto no significa que se considere de menor calidad. Además, se destaca por tener una alta cantidad de manteca, lo que lo hace muy apreciado en la industria cosmetológica debido a sus propiedades hidratantes para la piel (Sosa, 2020, pág. 23).

2.3.6.3. *Cacao Sacha*

Este tipo de cacao también es conocido como "cacao Edwin Sánchez Sacha", en honor al hombre que descubrió esta variedad en la finca de sus padres. Estos árboles eran altamente productivos y mostraban resistencia frente a enfermedades, es considerado altamente productivo y tiene características distintivas en sus mazorcas. Estas mazorcas son alargadas y rugosas, con colores que varían entre tonos rojizos y anaranjados (Carvajal et al, 2015, págs. 41-50).

En la provincia de Orellana, específicamente en el cantón Joya de los Sachas, se ubican las primeras plantaciones de un cacao considerado altamente productivo, conocido como cacao Sacha. Este tipo de cacao contiene en su ADN una gran proporción de trinitario, lo que se refleja en sus mazorcas alargadas y rugosas, de colores rojizos y anaranjados. Su sabor presenta notas cítricas que se asemejan al sabor del cacao fino del Caribe, lo que lo convierte en un cacao muy valorado en el mercado mundial (Sosa, 2020, pág. 24).

Una de las particularidades del cacao Sacha es su ADN, que contiene una significativa influencia de la variedad trinitario. Esta influencia genética se refleja en su sabor, el cual presenta notas cítricas que recuerdan al cacao fino del Caribe, una variedad altamente apreciada en el mercado mundial. El cacao Sacha ha ganado reconocimiento por su productividad y sus características organolépticas únicas, lo que lo convierte en una opción atractiva para los productores y consumidores de cacao. Su cultivo y producción están centrados en la provincia de Orellana, donde se han establecido las primeras plantaciones de este tipo de cacao prometedor (Carvajal et al, 2015, págs. 41-50).

2.3.6.4. *Super árbol*

Es una variedad de cacao que se ha identificado en la región Amazónica en Ecuador. Este cacao sobresale por su notable resistencia a enfermedades, alto rendimiento y calidad destacada. La utilización de este material genético en nuevas siembras, mediante prácticas agrícolas apropiadas, podría aumentar significativamente el rendimiento por hectárea y generar beneficios a mediano y largo plazo en términos económicos, sociales y medioambientales (Calva et al., 2016, pág. 5).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Materiales y métodos

3.1.1. Características del lugar

3.1.1.1. Localización

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (**Ilustración 3-1**).

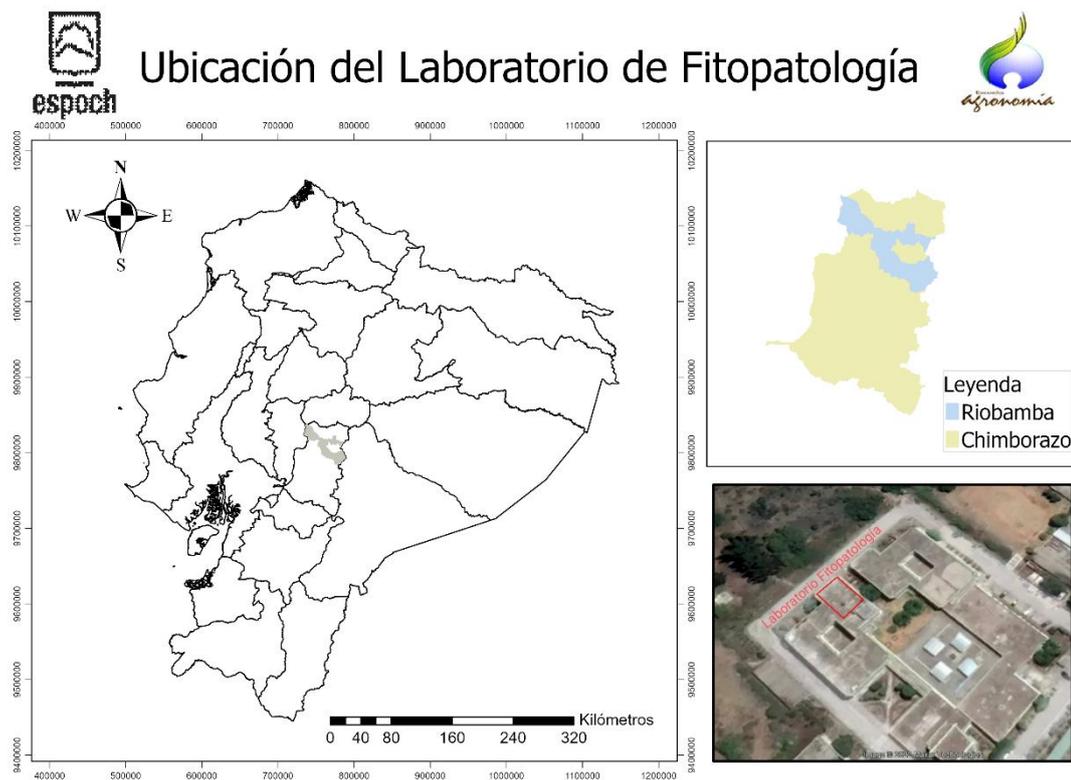


Ilustración 3-1: Ubicación del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales-ESPOCH

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.1.1.2. Ubicación geográfica

Tabla 3-1: Características geográficas de la zona

DESCRIPCIÓN DE LA ZONA	
Lugar:	Chimborazo, Riobamba
Altitud:	2850 m.s.n.m.
Longitud:	78° 40' 59'' W
Latitud:	01° 38' 51'' S

Fuente: (Estación Meteorológica ESPOCH, 2021).

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.1.2. Materiales y equipos

3.1.2.1. Materiales de oficina

Marcadores, esferos, libreta de apuntes, papeles, lápices, borrados, hojas de papel bond, cinta adhesiva, tijera, papel fomix azul.

3.1.2.2. Materiales de laboratorio

Botellas de vidrio de tapa roscable (500 mL y 100 mL), cajas Petri (90 mm), tubos de ensayo, papel film, papel toalla, cucharas desechables, cinta masking, tarrinas plásticas, fundas plásticas transparentes de polietileno, sorbetes, probetas (500 mL), cubre y porta objetos, asas, sorbetes, papel aluminio, puntas plásticas para micropipetas (10 μ L, 100 μ L, 1mL), Micropipeta (10 μ L, 100 μ L y 1000 μ L), gradillas para tubos de ensayo, guantes de nitrilo, matraz Erlenmeyer (250 mL), microtubos (2 mL y 1,5 mL).

3.1.2.3. Materiales biológicos

Material biológico de *Moniliophthora roreri*

Tabla 3-2: Cepas de *Moniliophthora roreri* utilizadas en el estudio

N° CEPA	CÓDIGO	CANTÓN	GENOTIPO DE CACAO
C8	OS-SC-03-A1	Joya de los Sachas	Tipo nacional
C10	OL-03-A1	Loreto	Super árbol
C18	O-FO-03-A1	Francisco de Orellana	CCN51

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

Material biológico de bacterias

Tabla 3-3: Cepas de bacterias utilizadas en el estudio

N° CEPA	CÓDIGO	COMUNIDAD	GENOTIPO DE CACAO
B6	O-FO-03-A2-M-S	La Belleza	CCN51
B8	OS-LS-03-A2-M-S	La Calumeña	Super árbol
B10	OS-UM-03-A2-M-E	La Calumeña	Super árbol
B14	OS-SC-03-A2-M-E	INIAP EECA	Tipo Nacional
B18	OS-SC-03-A6-M-E	INIAP EECA	Tipo Nacional
B23	O-FO-05-A5-M-S	La Belleza	CCN51
B25	O-UM-05-A2-MS-E	Unión Milagreña	Super árbol
B33	O-UM-05-A10-MS-E	Unión Milagreña	Super árbol
B37	OL-07-A2-M-S	Bajo Huiruno	CCN51
B40	OS-LS-07-A1-M—S	La Calumeña	Super árbol
B46	JS-EECA-A2-M-E	INIAP EECA	Tipo Nacional
B48	JS-EECA-A4-M-E	INIAP EECA	Tipo Nacional
B53	O-FO-09-A2-M-S	La Belleza	CCN51
B59	OS-UM-09-A2-M-S	Unión Milagreña	CCN51
B64	OS-LS-09-A3-M-E	La Calumeña	CCN51
B68	OS-R-09-A3-M-E	Tomebamba	CCN51
B69	OS-R-09-A4-M-E	Tomebamba	CCN51
B71	OS-SC-09-A1-M-E	INIAP EECA	Tipo Nacional

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.1.2.4. Equipos de oficina

Computadora, impresora, calculadora.

3.1.2.5. Equipos de laboratorio

Balanzas de precisión (RADWAG AS220.R2), autoclave (BIOBASE BKQ-B100II), cámara de flujo laminar (OASIS 48), incubadora (MEMMERT UN 30), secador de vidrio (SELECTA 200038), destilador de agua (BOECO WS 8000), cámara de esporulación, estereoscopio, adaptador de cámara fotográfica o microscopio, microondas (PANASONIC 900W), calibrador digital (VERNIER), micropipetas (Eppendorf), termo-bloque (HM100-PRO), termo-ciclador, vortex (QILINBEIER QL-901), Centrifuga (EPPENDORF 5424), Refrigeradora (Durex), Cuba electroforesis (FISHER SCIENTIFIC FB-SB-710).

3.1.3. Reactivos

Sacarosa, caseína hidrolizada, extracto de levadura, K₂HPO₄ (anhidro), Sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO₄-7H₂O), Bacto-Agar (BD DIFCO™), agua destilada estéril, alcohol al 70%, jugo de vegetales V8, aspergina (DIFCO), carbonato de calcio (ACROS ORGANICS), extracto de malta (MERCK), maltosa (GIBCO), etanol, isopropanol, master Mix, 2X (Go Taq® Green), DNA Ladder Bench Top 100 pb (PROMEGA), kit OMEGA E.Z.N.A.® Bacterial DNA, agarosa, Diamond™ Nucleic Acid Dye, TBE Buffer 10X.

3.2. Metodología

3.2.1. Operación de las variables

3.2.1.1. Variable dependiente

- Diversidad bacteriana
- Antagonismo

3.2.1.2. Variable independiente

- Localidades en la provincia de Orellana

3.2.2. Aislamiento de bacterias en mazorcas de cacao

Las muestras, previamente etiquetadas, se trasladaron envueltas en bolsas de papel al laboratorio. Posteriormente fueron procesadas según lo sugerido por Melnick et al. (2011). Se emplean tejidos de mazorcas sanas, las muestras de mazorca parte interna, muestras sanas se cortaron en pequeños trozos con una cuchilla estéril y posteriormente se desinfecto mediante tres lavados: primer lavado con agua estéril, hipoclorito de sodio al 10% durante 1 min; el segundo lavado con agua estéril, y alcohol por 30 s, y un triple lavado con agua estéril, para la eliminación de restos de humedad se los colocó en papel absorbente esterilizado luego se sembró en el medio agar nutriente. Para llegar a identificar la especie, también se realizarán pruebas bioquímicas, fisiológicas y nutricionales complementadas con técnicas de biología molecular.

3.2.3. Preparación de medios

Medio KADO 523 propuesto por Kado (1970) para bacterias.

Se preparó el medio KADO 523 en una cantidad suficiente para llenar un total de 20 cajas de cultivo, donde cada caja estaba compuesta por 15 mL del medio, resultando en una cantidad total de 300 mL de medio preparado. Esta formulación se llevó a cabo mediante la combinación de los siguientes componentes: 3 g de sacarosa, 2,4 g de caseína hidrolizada, 1,2 g de extracto de levadura 0,6 g de K_2HPO_4 (anhidro), 0,09 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 4,5 g de Bacto-Agar y agua destilada hasta alcanzar un volumen final de 300 mL.

Medio V8 modificado propuesto por Phillips & Mora (2003), para *Moniliophthora roreri*.

Con el fin de cultivar *Moniliophthora roreri*, se preparó una solución de 300 mL que fue utilizada para llenar un total de 20 cajas de Petri. La preparación de esta solución involucró la combinación de varios reactivos esenciales, incluyendo 60 mL de jugo V8, 6 g de maltosa, 0,30 g de asparagina, 3 g de extracto de malta, 0,9 g de $CaCO_3$, 6 g de agar-agar, y agua destilada hasta alcanzar un volumen final de 300 mL.

3.2.4. Reactivación de bacterias

Dentro de una cabina de flujo laminar, se dispensaron 15 mL del medio KADO 523 en cada caja Petri. Luego, se tomó una pequeña muestra de bacterias de tubos de 1,5 mL utilizando

puntas de micropipetas, y se procedió a realizar el estriado en cada una de las cajas Petri. Cada caja fue debidamente etiquetada, sellada con plástico film y finalmente colocada en una incubadora a una temperatura de 25 °C, manteniéndolas allí durante un período de incubación de 24 h (**Ilustración 3-2**).

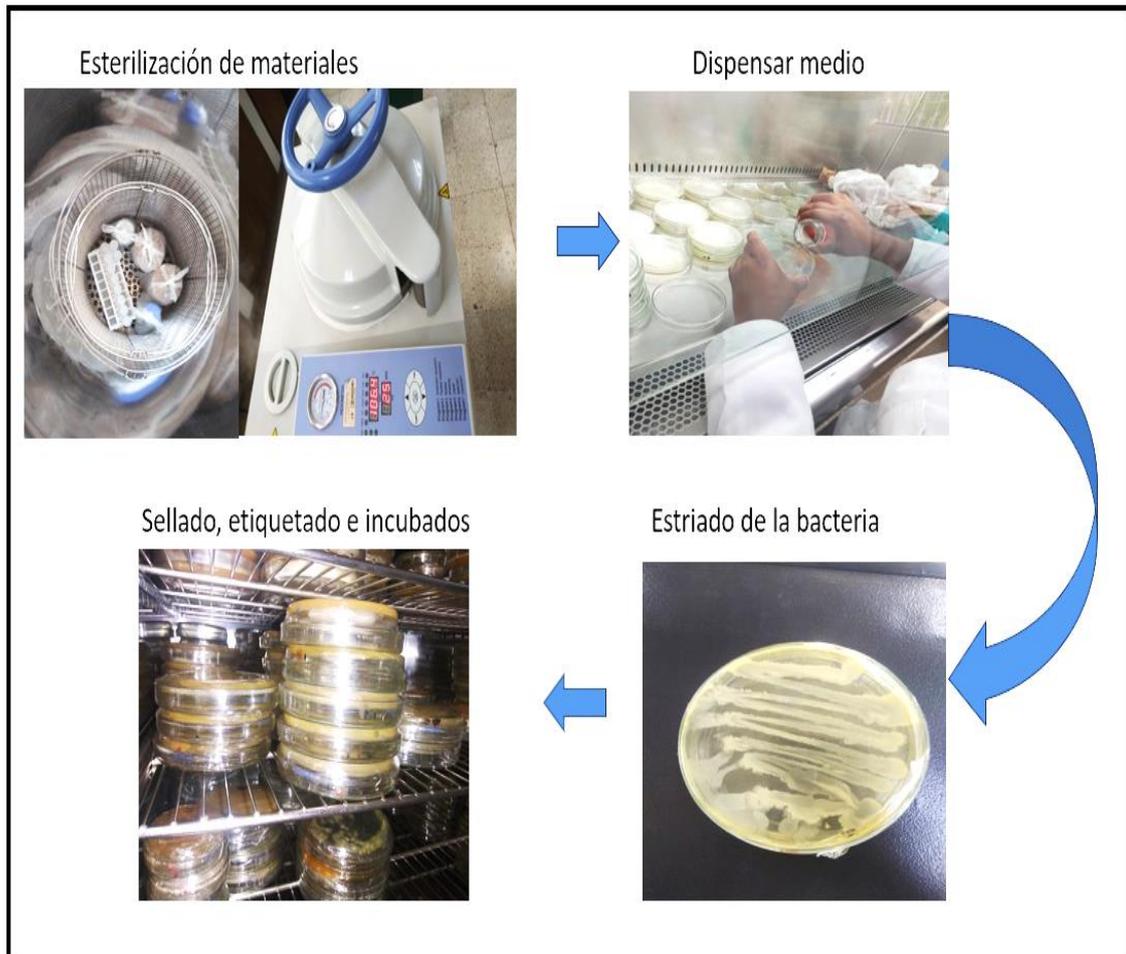


Ilustración 3-2: Reactivación de bacterias

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.2.5. *Purificación de bacterias*

Para la purificación de las bacterias se realizó una previa esterilización de los materiales para evitar contaminación. Luego en la cabina de flujo laminar se dispensa el medio KADO 523 (15mL) en cada caja Petri. Se colocó 2 mL de agua destilada estéril en cada caja Petri que contenía la bacteria y con la ayuda de la espátula drigalski se removió la bacteria crecida, se tomó 1 mL y se transfirió a un tubo de ensayo que contenía los 9 mL de agua destilada, se agitó suavemente para la obtención de una suspensión homogénea, nuevamente se transfirió a un nuevo tubo de ensayo y repetimos el proceso hasta llegar a la 10^{-5} y 10^{-6} . Posteriormente se

tomó 25µL de la suspensión y se transfirió al medio KADO 523, luego se dispensó toda la caja con la espátula drigalski para etiquetar, sellar e incubar a 25 °C durante 24 h (**Ilustración 3-3**).

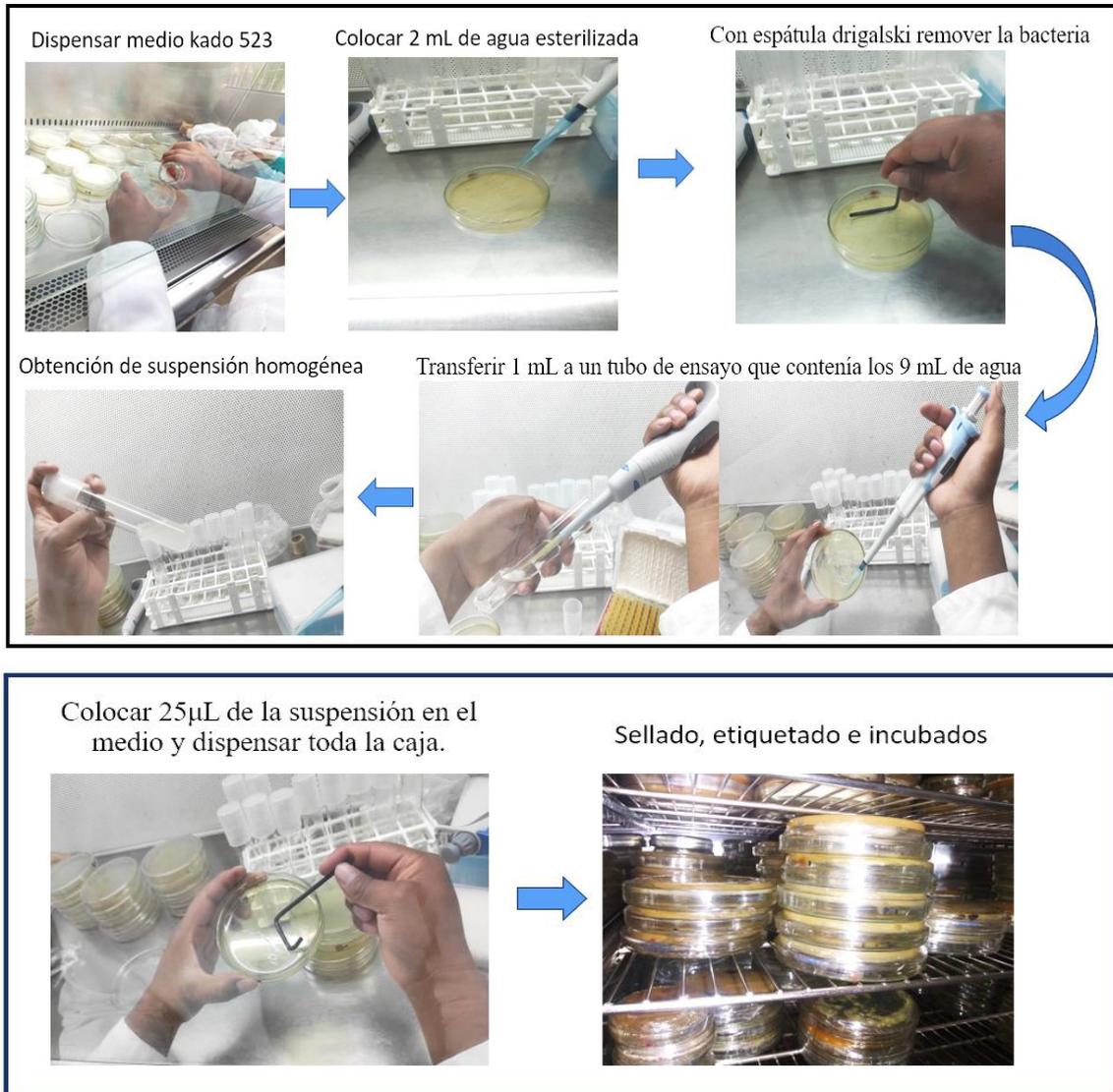


Ilustración 3-3: Purificación de bacterias

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.2.6. *Cultivos puros*

Con el propósito de obtener cultivos puros, se procedió en la cabina de flujo laminar a dispensar el medio KADO 523. Una vez que el medio se solidificó, se utilizó una micropipeta para tomar una pequeña porción de una de las colonias que presentaban las características más favorables. Esta porción se transfirió cuidadosamente a cada caja Petri correspondiente. Las cajas fueron debidamente etiquetadas y luego selladas con plástico film. A continuación, se colocaron en una

incubadora a una temperatura de 25 °C, manteniéndolas allí durante un período de incubación de 48 h (**Ilustración 3-4**).



Ilustración 3-4: Obtención de cultivos puros

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.2.7. Caracterización cultural de diferentes colonias de bacterias

La caracterización se realizó mediante el uso del estereoscopio y se estableció la Forma (circular, irregular, filamentosa, rizoide, puntiforme, fusiforme), Bordes (entero, lobulado, ondulado, rizado, filamentoso, erosionado), Elevación (plana, elevada, convexa, pulvinada, umbilicada) y la pigmentación se estableció en base a la tabla de Pantone (Pantone Coated Color Reference, 2012). Es a partir de esta técnica que se realizó la caracterización y finalmente con la ayuda del adaptador de cámara fotográfica se tomaron las respectivas fotos de cada colonia (**Ilustración 3-5**).

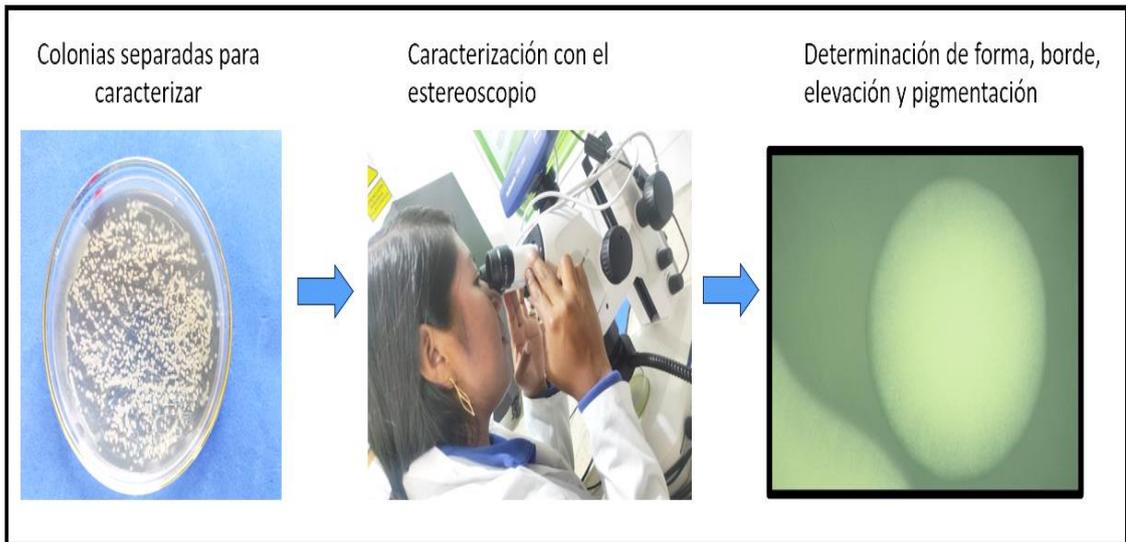


Ilustración 3-5: Caracterización cultural de las colonias de bacterias

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.2.8. Extracción de ADN genómico de las bacterias

La extracción de ADN se llevó a cabo mediante el empleo del kit OMEGA E.Z.N.A.® Bacterial DNA, siguiendo rigurosamente las instrucciones del fabricante (**Ilustración 3-6**).



Ilustración 3-6: Extracción de ADN genómico de las bacterias

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

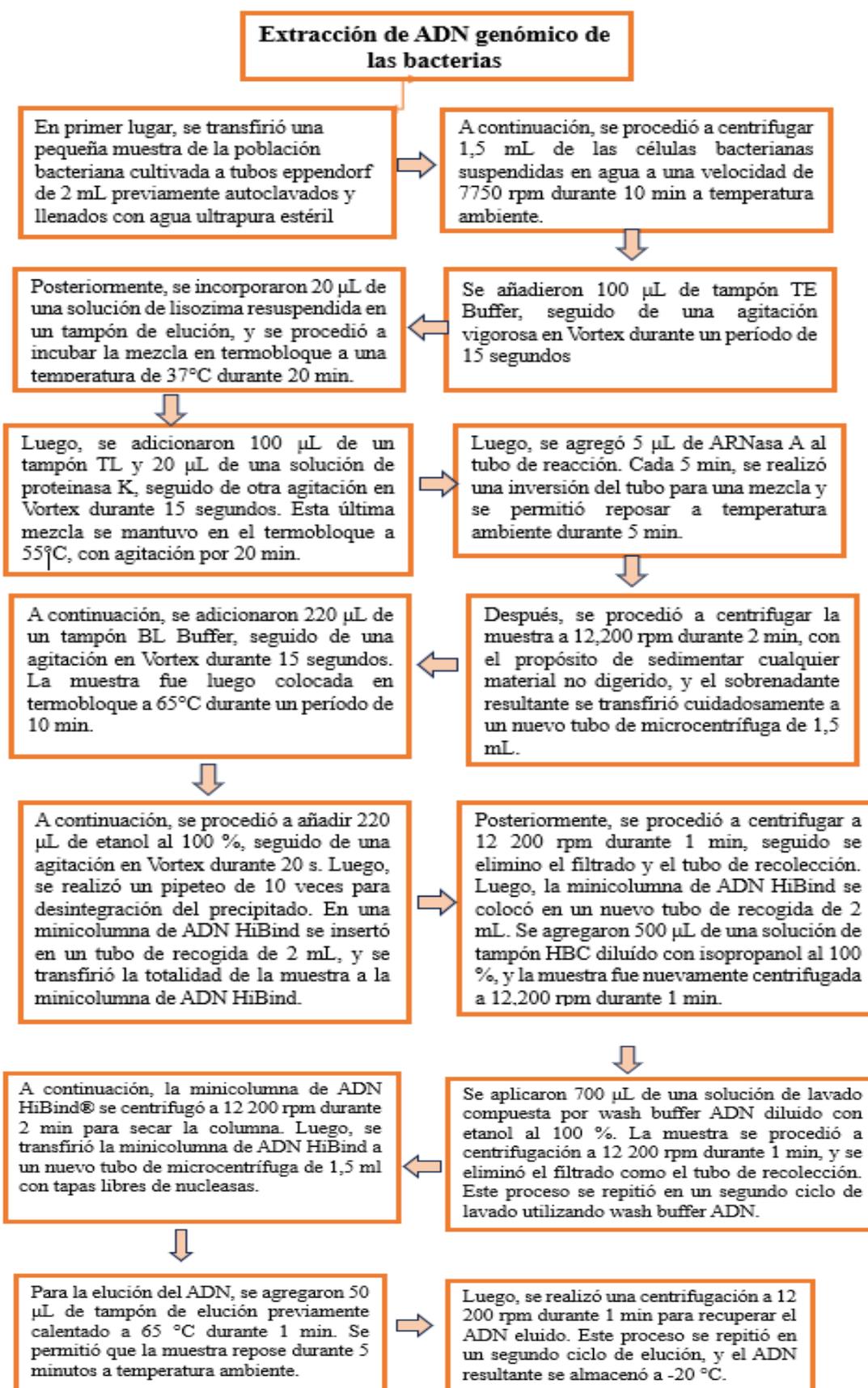


Ilustración 3-7: Procedimiento de la extracción

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.2.9. PCR con primers

La identificación molecular está basada en el análisis del ARNr 16S con los primers 27f y 1492r.

Para la PCR se preparó 6,25 μL de Master Mix, 2X Go Taq® Green, 1 μL de forward 27f, 1 μL de reverse 1492r, 2,25 μL de agua ultrapura estéril y 2 μL de ADN de cada una de las muestras dando un total de 12,5 μL para cada reacción de PCR (**Ilustración 3-8**).

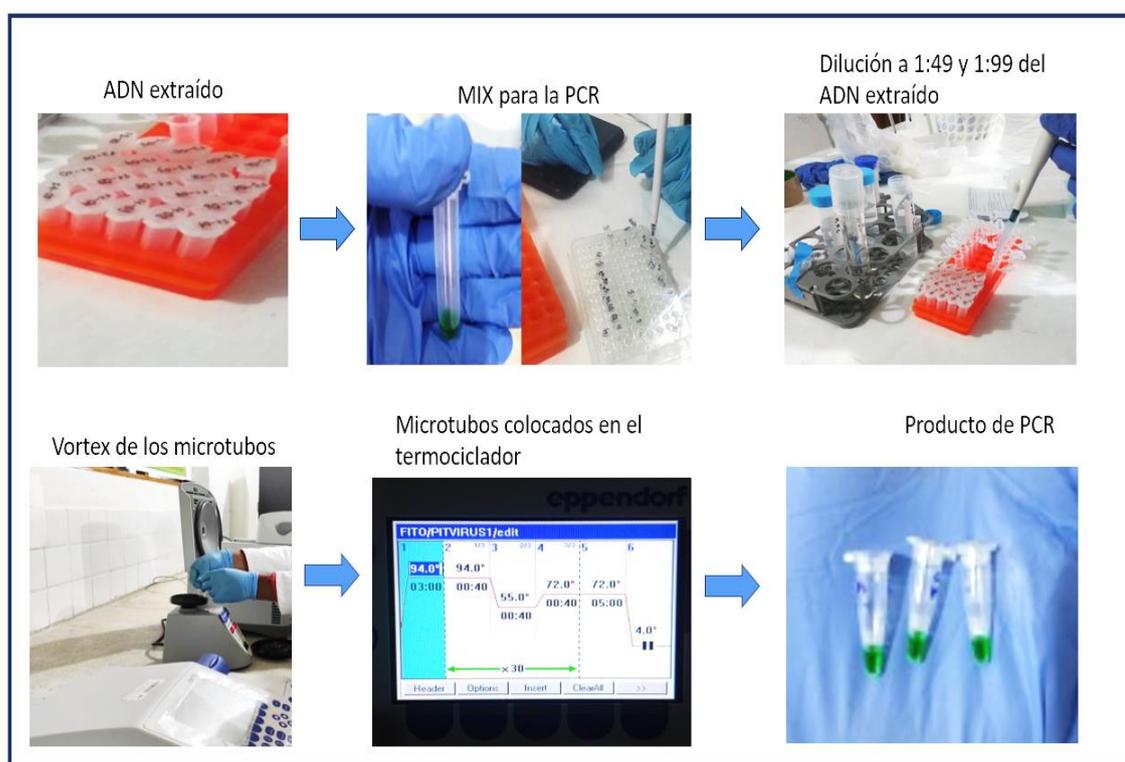


Ilustración 3-8: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

Para la amplificación se realizó en el termociclador con las siguientes condiciones:

Tabla 3-4: Perfil térmico para PCR

Condición	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	95 °C	4 min	
Desnaturalización	94 °C	30 s	
Anelamiento	55 °C	30 s	30
Extensión	72 °C	1 min	
Extensión final	72 °C	10 min	

Fuente: (Álvarez, 2023).

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

Tabla 3-5: Primers usados para identificación molecular basada en el análisis del ARNr 16S

Nombre	Código	Secuencia
27f	27f (Forward)	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
1492r	1492r (Reverse)	TACGGYTACCTTGTTACGACT

Fuente: (Ukuda et al, 2016).

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.2.10. Electroforesis

La electroforesis se llevó a cabo con el objetivo de confirmar la presencia de amplificación de bandas. Para preparar el gel, se utilizó una solución compuesta por un 1.33 % de agarosa y TBE Buffer, con una concentración de 0,8 g de agarosa. Se preparó una mezcla que consistía en 360 mL de agua destilada y 40 mL de TBE Buffer. Luego, se tomaron 60 mL de esta mezcla y se diluyeron con agarosa en el microondas, a los que se añadieron 3 μ L de un agente intercalante (Diamond TM Nuclei Acid Dye). Esta solución se vertió en una cubeta de electroforesis (modelo FISHER SCIENTIFIC FB-SB-710) y se crearon 10 pozos en ella. Una vez que el gel se solidificó, se retiraron las bandas de los 10 pozos y se agregaron 340 mL de TBE Buffer a la cubeta.

Luego, en una cinta de parafilm se mezclaron 2 μ L de un buffer de carga (10X BlueJuice™ Gel Loading Buffer), 2 μ L de los productos obtenidos de la reacción de PCR. Estas muestras se depositaron en los pozos del gel, y la electroforesis se llevó a cabo con una configuración de voltaje de 75 voltios, 70 amperios, y un tiempo de corrida de 60 min.

Cuando finalizó la electroforesis el gel se colocó sobre el transluminador UV (FISHER SCIENTIFIC 88A) y se observó la amplificación del ADN (**Ilustración 3-9**).



Ilustración 3-9: Electroforesis

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

3.2.11. Secuenciación del producto de PCR

Las muestras se secuenciaron con la tecnología SANGER en la empresa MACROGEN COREA.

3.2.12. Siembra dual

Se llevó a cabo ensayos de confrontación utilizando la técnica de siembra dual, enfrentando *Moniliophthora roreri* como el patógeno, con 12 cepas bacterianas como antagonistas, en medio de cultivo V8 modificado y medio de cultivo KADO 523. En este proceso, se sembraron discos de micelio de 5 mm de diámetro del patógeno en el centro de la caja Petri. Luego de 6 días de crecimiento se procedió a realizar un estriado con la bacteria antagonista tomada con puntas de micropipetas que se colocó en la parte superior e inferior de la caja Petri, y se procedió a incubar a una temperatura de 25 °C durante 4 días para finalmente proceder a la toma de datos de las diferentes confrontaciones.

3.2.13. Variable evaluada

3.2.13.1. Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial

Luego de la incubación durante 4 días en el medio V8 y 5 días en el medio KADO 523 de la siembra dual a 25 °C se procedió a evaluar la inhibición del crecimiento micelial por parte de las bacterias hacia el patógeno, y se determinó mediante la siguiente fórmula utilizada por Ezziyyani et al. (2004), en este caso para el porcentaje de inhibición se utilizó el diámetro empleado en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{D1 - D2}{D1} \times 100$$

En donde:

- D1 = diámetro mayor (del patógeno testigo)
- D2 = diámetro menor (del patógeno en el enfrentamiento con el antagonista)

3.2.13.2. Tasa de crecimiento micelial *Moniliophthora roreri* H.C Evans

Una vez realizado el ensayo se procedió a medir el diámetro de cada tratamiento con su cepa correspondiente de manera horizontal y vertical cada 24 h, para determinar la tasa de crecimiento micelial del hongo *Moniliophthora roreri* H.C Evans, se utilizó la siguiente fórmula.

$$TCM = \frac{\text{Crecimiento de micelio}}{\text{Número de días}}$$

3.2.14. Diseño experimental

En esta investigación se utilizó un DCA trifactorial, en donde se consideró 3 cepas de *Moniliophthora roreri* vs 12 especies de bacterias y se probó 2 medios de cultivos diferentes, dando un total de 72 tratamientos, este diseño se utilizó solo para antagonismo. Los datos obtenidos se organizaron en hojas de cálculo de Microsoft Excel y se sometieron a un proceso de análisis estadístico mediante el uso del software R. Se aplicó el Test de Tukey al nivel de

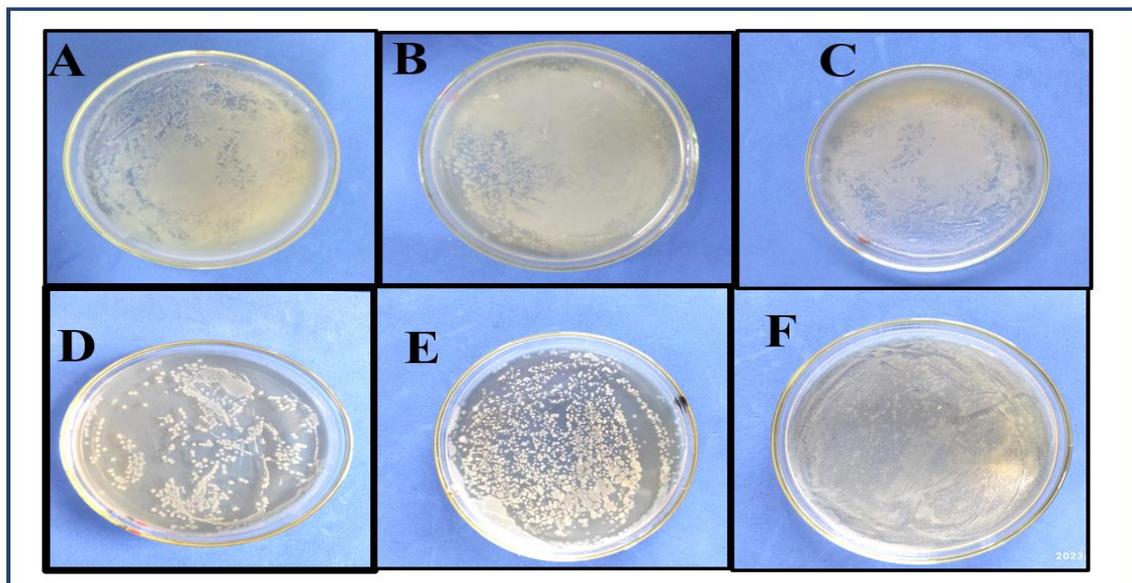
significancia del 5 % con el propósito de llevar a cabo la comparación y diferenciación de las medias.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Caracterización cultural de las diferentes colonias de bacterias

Luego de una previa purificación de las diferentes colonias que se desarrollaron en medio de cultivo KADO 523 lo cual reflejaron diferentes características culturales. La forma, borde, elevación y pigmentación son las principales características que se consideraron para la selección de las mejores colonias bacterianas.



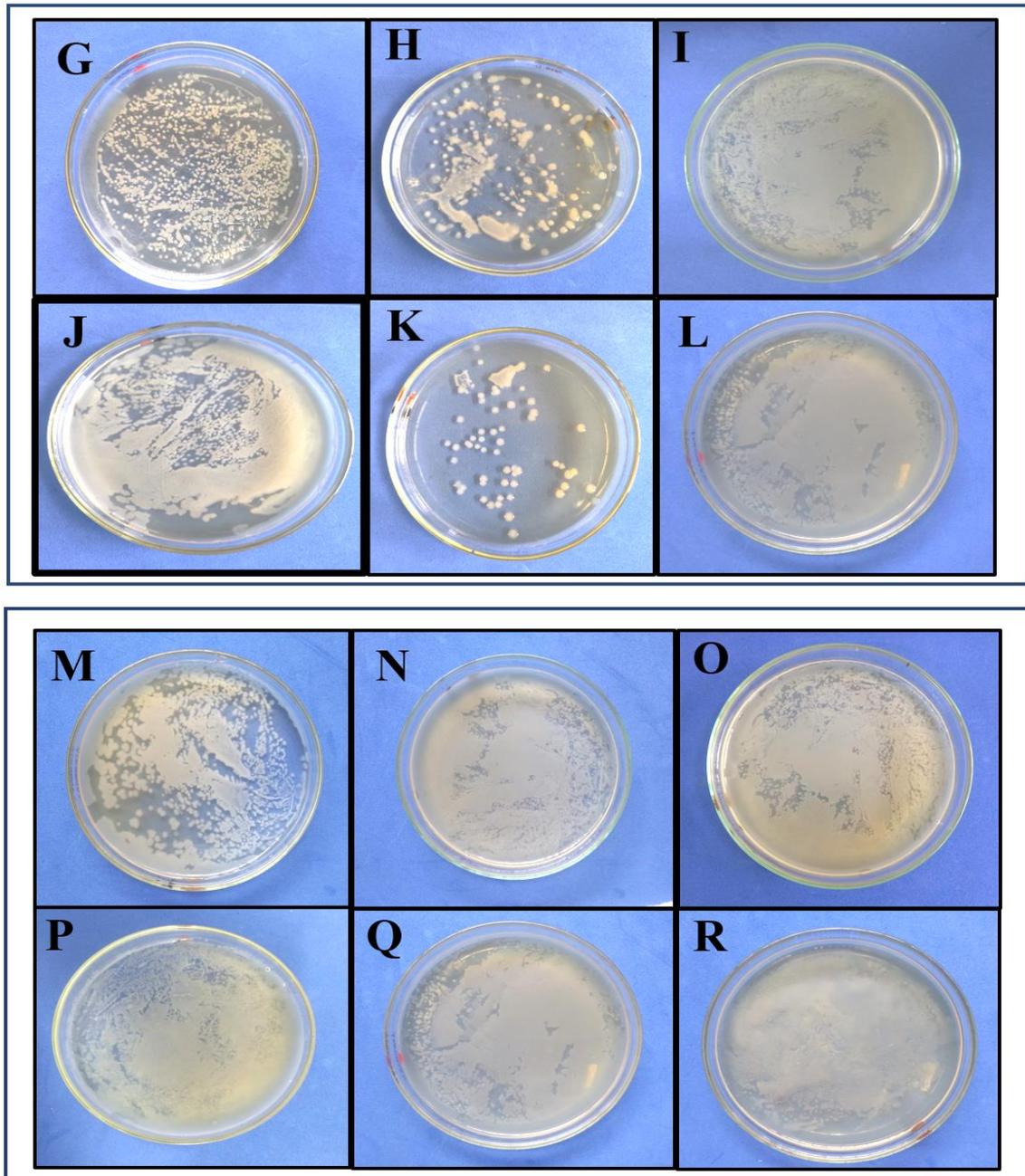


Ilustración 4-1: Caracterización cultural de las bacterias

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

➤ **Bacteria B6**

El crecimiento Bacteriano de la cepa B6 con código O-FO-03-A2-M-S, genotipo (CCN51), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, inicialmente se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma irregular, elevación plana y bordes lobulados (**Ilustración 4-A**).

➤ **Bacteria B8**

El crecimiento Bacteriano de la cepa B8 con código OS-LS-03-A2-M-S genotipo (Super árbol), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma irregular, elevación plana y bordes lobulados (**Ilustración 4-B**).

➤ **Bacteria B10**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B10 con código OS-UM-03-A2-M-E genotipo (Super árbol), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma irregular, elevación plana y bordes lobulados (**Ilustración 4-C**).

➤ **Bacteria B14**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B14 con código OS-SC-03-A2-M-E genotipo (Tipo Nacional), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C, se observó que presentó una pigmentación amarilla (PANTONE 12-0633 TCX Canary yellow) con una forma Circular, elevación plana y bordes enteros (**Ilustración 4-D**).

➤ **Bacteria B18**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B18 con código OS-SC-03-A6-M-E genotipo (Tipo Nacional), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma Circular, elevación plana y bordes enteros (**Ilustración 4-E**).

➤ **Bacteria B23**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B23 con código O-FO-05-A5-M-S genotipo (CCN51), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma irregular, elevación plana y bordes ondulado (**Ilustración 4-F**).

➤ **Bacteria B25**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B25 con código O-UM-05-A2-MS-E genotipo (Super árbol), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma irregular, elevación plana y bordes lobulado (**Ilustración 4-G**).

➤ **Bacteria B33**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B33 con código O-UM-05-A10-MS-E genotipo (Super árbol), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación amarilla (PANTONE 12-0633 TCX Canary Yellow) con una forma circular, elevación plana y borde entero (**Ilustración 4-H**).

➤ **Bacteria B37**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B37 con código OL-07-A2-M-S genotipo (CCN51), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma irregular, elevación plana y borde lobulado (**Ilustración 4-I**).

➤ **Bacteria B40**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B40 con código OS-LS-07-A1-M-S genotipo (Super árbol), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación amarilla (Pantone 12-0633 TCX Canary Yellow) con una forma circular con presencia de halo en el interior una elevación plana y borde entero (**Ilustración 4-J**).

➤ **Bacteria B46**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B46 con código JS-EECA-A2-M-E genotipo (Tipo Nacional), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación amarilla (Pantone 12-0633 Tcx Canary Yellow) con una forma circular, elevación plana y borde entero (**Ilustración 4-K**).

➤ **Bacteria B48**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B48 con código JS-EECA-A4-M-E genotipo (Tipo Nacional), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma circular, elevación plana y borde entero (**Ilustración 4-L**).

➤ **Bacteria B53**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B53 con código O-FO-09-A2-M-S genotipo (CCN51), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que inicialmente presentó una pigmentación blanca tornando a amarillo (Pantone 11-4201 Cloud Dancer tornando a una pigmentación Pantone 12-0633 Tcx Canary Yellow) con una forma circular, elevación plana y borde entero (**Ilustración 4-M**).

➤ **Bacteria B59**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B59 con código OS-UM-09-A2-M-S genotipo (CCN51), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que inicialmente presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer), forma circular, elevación plana y borde ondulado (**Ilustración 4-N**).

➤ **Bacteria B64**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B64 con código OS-LS-09-A3-M-E genotipo (Super árbol), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que inicialmente presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer), forma irregular, elevación plana y borde lobulado (**Ilustración 4-O**).

➤ **Bacteria B68**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B68 con código OS-R-09-A3-M-E genotipo (CCN51), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a 25°C±, se observó que inicialmente presentó una pigmentación amarilla (Pantone 12-0633 Tcx Canary Yellow), forma irregular, elevación plana y borde entero (**Ilustración 4-P**).

➤ **Bacteria B69**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B69 con código OS-R-09-A4-M-E genotipo (CCN51), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a $25^{\circ}\text{C}\pm$, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer), forma irregular, elevación plana y borde lobulado (**Ilustración 4-Q**).

➤ **Bacteria B71**

El crecimiento Bacteriana de la cepa B71 con código OS-SC-09-A1-M-E genotipo (Tipo Nacional), se desarrolló en medio de cultivo KADO 523 de formar rápida a $25^{\circ}\text{C}\pm$, se observó que presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer), forma irregular, elevación plana y borde lobulado (**Ilustración 4-R**).

Tabla 4-1: Resumen de la caracterización cultural de las bacterias

Código	Genotipo	Forma	Elevación	Borde	Pigmentación
O-FO-03-A2-M-S	CCN51	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
OS-LS-03-A2-M-S	Super árbol	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
OS-UM-03-A2-M-E	Super árbol	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
OS-SC-03-A2-M-E	Tipo Nacional	Circular	Plana	Entero	PANTONE 12-0633 TCX Canary yellow (amarillo)
OS-SC-03-A6-M-E	Tipo Nacional	Circular	Plana	Entero	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
O-FO-05-A5-M-S	CCN51	Irregular	Plana	Ondulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
O-UM-05-A2-MS-E	Super árbol	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
O-UM-05-A10-MS-E	Super árbol	Circular	Plana	Entero	PANTONE 12-0633 TCX Canary yellow (amarillo)
OL-07-A2-M-S	CCN51	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
OS-LS-07-A1-M-S	Super árbol	Circular con presencia de halo interno	Plana	Entero	PANTONE 12-0633 TCX Canary yellow (amarillo)
JS-EECA-A2-M-E	Tipo Nacional	Circular	Plana	Entero	PANTONE 12-0633 TCX Canary yellow (amarillo)
JS-EECA-A4-M-E	Tipo Nacional	Circular	Plana	Entero	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
O-FO-09-A2-M-S	CCN51	Circular	Plana	Entero	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer tornando a 12-0633 TCX Canary yellow (blanco y amarillo)
OS-UM-09-A2-M-S	CCN51	Circular	Plana	Ondulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
OS-LS-09-A3-M-E	CCN51	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
OS-R-09-A3-M-E	CCN51	Circular con presencia de halo interno	Plana	Entero	PANTONE 12-0633 TCX Canary yellow (amarillo)
OS-R-09-A4-M-E	CCN51	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)
OS-SC-09-A1-M-E	Tipo Nacional	Irregular	Plana	Lobulado	PANTONE 11-4201 Cloud Dancer (blanco)

Realizado

por:

Tenesaca,

Y.,

2023.

4.1.1. Caracterización molecular de las bacterias

Las secuencias obtenidas de nucleótidos y alineadas con la base de datos BLAST del Centro Nacional de Información Biotecnológica arrojaron resultados de 7 géneros diferentes en relación a las diferentes cepas bacterianas; siendo las cepas B6, B8, B10, B18, B25, B37, B53, B59, B68, B69 y B71 que correspondieron al género *Bacillus* sp. con un porcentaje de identidad promedio de 82,57%, seguido por la cepa B14 que fue representado por el género *Stenotrophomonas* sp. con un porcentaje de identidad promedio de 92,68%, las cepas B23 y B33 sobrellevados por el género *Sphingobacterium* sp. con un porcentaje de identidad promedio 86,83% , la cepa B40 corresponde al género *Mammaliicoccus* sp, con un porcentaje de identidad del 91,12%, la cepa B46 por el género *Brucella* sp. con un porcentaje de identidad promedio 87,59%, la cepa B48 por el género *Achromobacter* sp con un porcentaje de identidad del 91,68% y finalmente, la cepa B64 por el género *Brachybacterium* sp. con un porcentaje de identidad del 89,76% (**Tabla 4-2**).

Tabla 4-2: Identificación molecular mediante análisis BLASTn de las cepas de bacterias

Muestra	Código	Región	Tamaño de Nucleótidos	Género identificado	Porcentaje de identidad	E-value	Acceso	Origen geográfico
B6	O-FO-03-A2-M-S	16s	887	<i>Bacillus</i>	91,44 %	0	MH737743.1	Bangladesh
B8	OS-LS-03-A2-M-S	16s	639	<i>Bacillus</i>	87,74 %	0	OK605552.1	India
B10	OS-UM-03-A2-M-E	16s	1039	<i>Bacillus</i>	92,75 %	0	OP001383.1	China
B14	OS-SC-03-A2-M-E	16s	714	<i>Stenotrophomonas</i>	92,64 %	0	MN955580.1	Nigeria
B18	OS-SC-03-A6-M-E	16s	780	<i>Bacillus</i>	96,56 %	0	MN232167.1	Egypt
B23	O-FO-05-A5-M-S	16s	177	<i>Sphingobacterium</i>	95,51 %	8e-72	OQ472434.1	China
B25	O-UM-05-A2-MS-E	16s	1033	<i>Bacillus</i>	88,38 %	0	KT897915.1	China
B33	O-UM-05-A10-MS-E	16s	652	<i>Stenotrophomonas</i>	98,01 %	0	LK871646.1	Senegal
B37	OL-07-A2-M-S	16s	1080	<i>Bacillus</i>	96,84 %	0	AM269452.1	China
B40	OS-LS-07-A1-M—S	16s	469	<i>Mammaliicoccus</i>	94,88 %	0	MZ707502.1	Egypt
B46	JS-EECA-A2-M-E	16s	209	<i>Brucella</i>	97,13 %	8e-93	MN082123.1	Brazil
B48	JS-EECA-A4-M-E	16s	989	<i>Achromobacter</i>	93,94 %	0	MN082114.1	Brazil
B53	<i>O-FO-09-A2-M-S</i>	16s	504	<i>Bacillus</i>	96,39 %	0	MK045773.1	Malaysia
B59	OS-UM-09-A2-M-S	16s	409	<i>Bacillus</i>	93,41 %	1e-168	CP017060.1	Korea
B64	OS-LS-09-A3-M-E	16s	389	<i>Brachybacterium</i>	89,72 %	2e-135	MK039017.1	China
B68	OS-R-09-A3-M-E	16s	639	<i>Bacillus</i>	84,69 %	1e-164	KU724079.1	Colombia
B69	OS-R-09-A4-M-E	16s	923	<i>Bacillus</i>	82,3 %	2e-149	MT533450.1	Egypt
B71	OS-SC-09-A1-M-E	16s	1045	<i>Bacillus</i>	95,69 %	0	ON479459.1	India

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

4.2. Antagonismo *Moniliophthora roreri* vs bacterias

El análisis de varianza (ADEVA) correspondiente al factor A (Cepas *Moniliophthora roreri*.) mostró el p-valor $> 0,01$ y $< 0,05$, con un valor de $4,20 \times 10^{-6}$ mismo que se muestran diferencias estadísticas significativas entre las cepas de *M.roreri*. El factor B (Cepas bacterianas) mostró el p-valor $< 0,01$, con un valor de $4,45 \times 10^{-8}$ lo cual se observa altamente significancia estadística para las cepas bacterianas. El factor C (medio de cultivo) mostró el p-valor $< 0,01$, con un valor de 2×10^{-16} lo cual muestra significancia estadística para los medios de cultivo.

Con respecto a las interacciones, el factor A por el factor B mostró el p-valor $> 0,05$, con un valor de 0,1907 lo cual no tiene significancia estadística entre las cepas de *M.roreri* frente cepas bacterianas. El factor A por el factor C mostró el p-valor $< 0,01$, con un valor de 0,0018 lo cual muestra significancia estadística entre las cepas de *M.roreri* frente a los medios cultivos utilizados. El factor B por el factor C mostró el p-valor $< 0,01$, con un valor de 0,0001 lo cual tiene significancia estadística entre las cepas de bacterias frente a medios de cultivos. Finalmente para la interacción del factor A por el factor B por el factor C mostró el p-valor $< 0,05$, con un valor de 0,0172 lo cual tiene significancia estadística entre las cepas de *M.roreri* frente cepas bacterianas y frente al medio de cultivo (**Tabla 4-3**).

Tabla 4-3: Análisis de varianza para el porcentaje de inhibición de *M.roreri* vs bacterias

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Significancia
Cepa	1785,25	2	892,63	13,5	$4,20 \times 10^{-6}$	***
Bacteria	4397,27	11	399,75	6,05	$4,45 \times 10^{-8}$	***
Medio	9136,4	1	9136,4	138,19	2×10^{-16}	***
cepa*bacteria	1869,5	22	84,98	1,29	0,1907	
cepa*medio	874,38	2	437,19	6,61	0,0018	**
bacteria*medio	5754,49	11	523,14	7,91	$< 0,0001$	***
cepa*bacteria*medio	2690,5	22	122,3	1,85	0,0172	*
Error	9520,75	144	66,12			
Total	36028,54	215				

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

Nota:

p-valor: $> 0,01$ y $> 0,05$: ns (No significativo)

p-valor: $> 0,01$ y $< 0,05$: * (Significativo)

p-valor: $< 0,01$ y $< 0,05$: ** (Altamente significativo)

4.2.1. Respuesta de inhibición para el factor A: Cepas de *M.roreri* (C8, C10, C18)

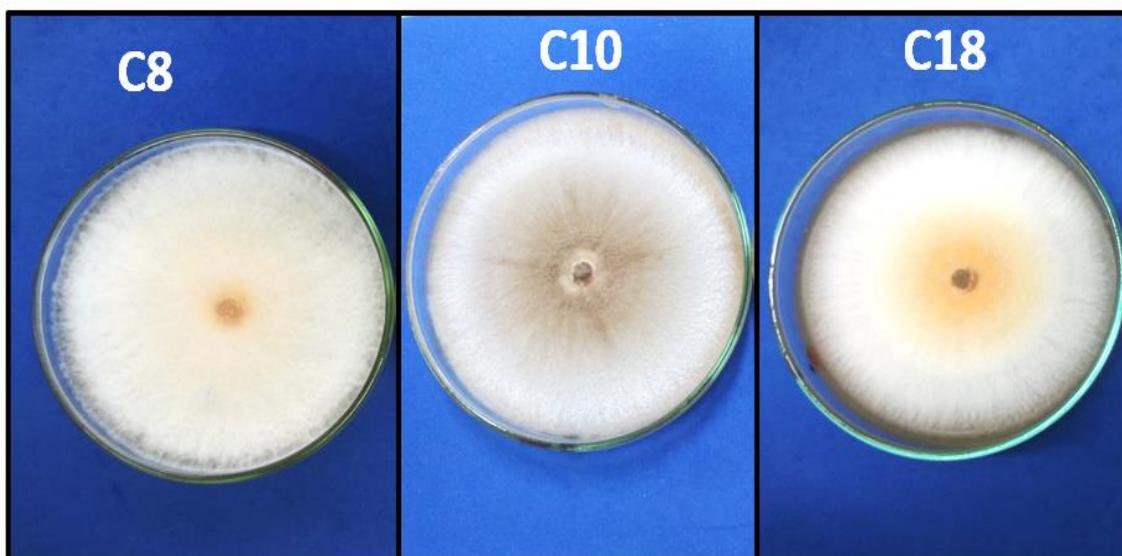


Ilustración 4-2: Cepas de *Moniliophthora roreri*

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

La cepa de *M.roreri* que produce un mayor porcentaje de inhibición fue la C10, su genotipo de cacao es super árbol y proviene del cantón Loreto con el porcentaje del 24,95%

La prueba de Tukey para las distintas cepas de *Moniliophthora roreri*, presentaron dos grupos estadísticos; en el grupo “a” se ubicó a las cepas C10 y C18, con un promedio de 23,99%; mientras que para el grupo “b” encontramos a la cepa C8 con un promedio de 18,13% (Ilustración 4-3) (Tabla 4-4).

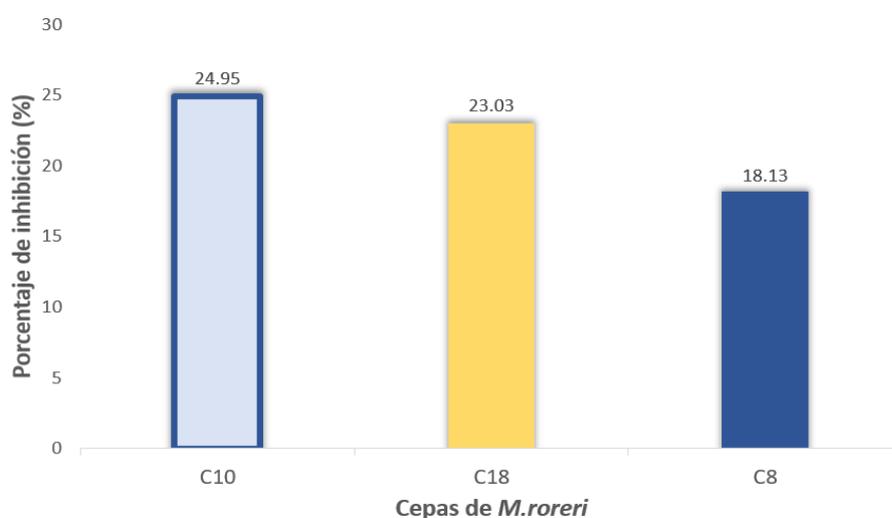


Ilustración 4-3: Porcentaje de inhibición de las cepas de *M.roreri*

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

Tabla 4-4: Prueba de Tukey al 5% del factor A (Cepas *Moniliophthora roreri*.)

Tratamientos	Media	Grupos
C10	24,95	a
C18	23,03	a
C8	18,13	b

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

4.2.2. Respuesta de inhibición para el factor B: Bacterias



Ilustración 4-4: Bacteria *Mammaliicoccus*

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

La bacteria *Mammaliicoccus*, con el código B40 fue el que produce un mayor porcentaje de inhibición, su genotipo de cacao es super árbol y proviene de la comunidad La Calumeña con el porcentaje del 30,66%.

La prueba de rangos múltiples Tukey para las distintas cepas bacterianas presentaron cinco grupos estadísticos; en el grupo “a” tenemos a la cepa B40 (*Mammaliicoccus*), con un promedio de 30,66%; para el grupo “ab” se mostraron las cepas B23, B25 y B10 (*Sphingobacterium daejeonense*, *Bacillus* y *Bacillus*) con un valor promedio de 27,27; por otro lado el grupo “abc” se ubicó a la cepa B8 (*Bacillus*) con un promedio de 23,68; así mismo en el grupo “bc” se encuentra las cepas B48, B6, B14, B46 y B71 (*Achromobacter*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Brucella*, y *Bacillus*.) con un valor promedio de 20,06%; finalmente el grupo “c” tenemos a las cepas B18 y B64 (*Bacillus* y *Brachy bacterium*) con un promedio de 15,50% (**Ilustración 4-5**) (**Tabla 4-6**).

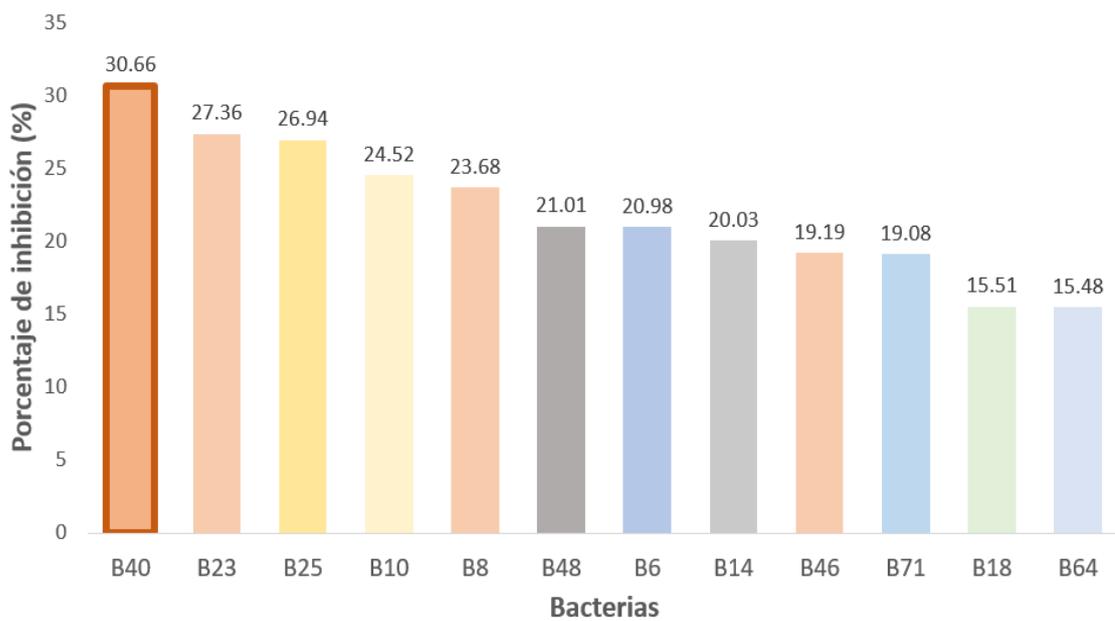


Ilustración 4-5: Porcentaje de inhibición de las bacterias

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

Tabla 4-5: Prueba de Tukey al 5% del factor B (Cepas bacterianas)

Tratamientos	Media	Grupos
B40	30,66	a
B23	27,36	ab
B25	26,94	ab
B10	24,52	ab
B8	23,68	abc
B48	21,01	bc
B6	20,98	bc
B14	20,03	bc
B46	19,19	bc
B71	19,08	bc
B18	15,51	c
B64	15,48	c

Realizado por: Tenesaca Y., 2023.

4.2.3. Respuesta de inhibición para el factor C: Medio (V8 compuesto y KADO 523)

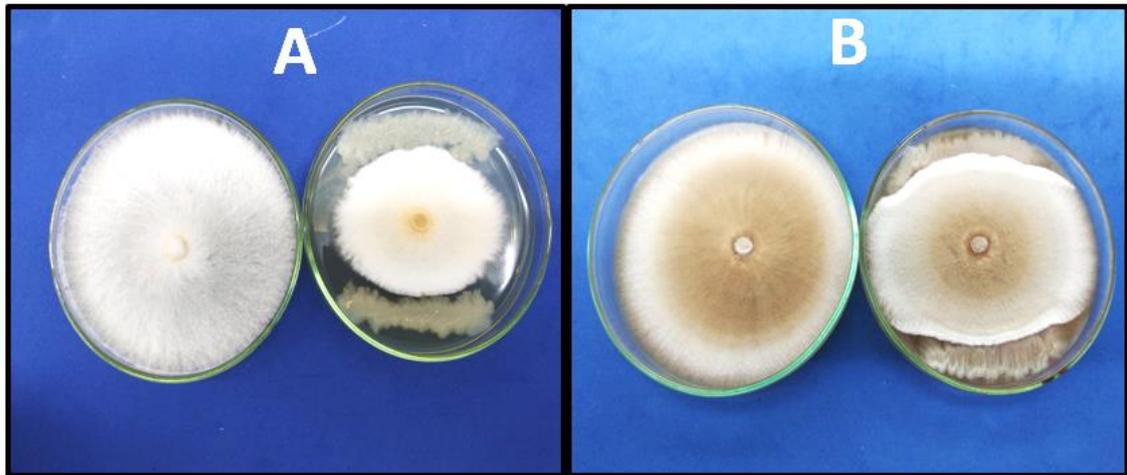


Ilustración 4-6: Antagonismo en medio KADO 523 (A) y medio V8 modificado (B)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

El medio con mayor porcentaje de inhibición fue el medio KADO 523 con un porcentaje del 28,54%.

La prueba de rangos múltiples Tukey para el tipo de medio de cultivo, presentaron dos grupos estadísticos; en el grupo “a” se ubicó al medio KADO 523, con un promedio de 28,54%; mientras que para el grupo “b” encontramos al medio de cultivo V8 modificado con un promedio de 15,53% (**Ilustración 4-7**) (**Tabla 4-8**).

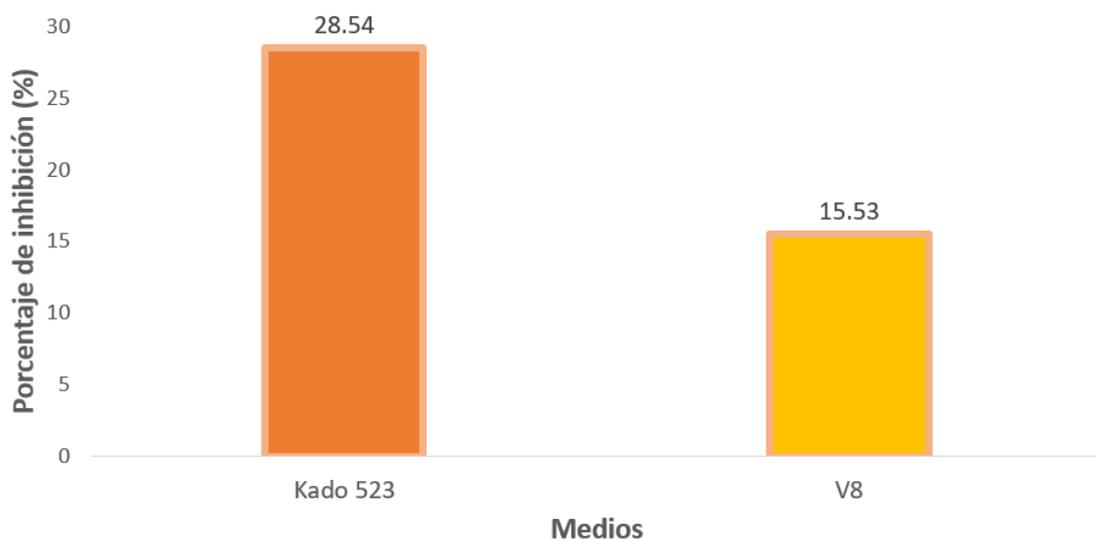


Ilustración 4-7: Porcentaje de inhibición de acuerdo con el medio KADO 523 y V8 modificado

Realizado por: Tenesaca Y., 2023.

Tabla 4-6: Prueba de Tukey al 5% del factor C (medio de cultivo)

Tratamientos	Media	Grupos
KADO 523	28,54	a
V8	15,53	b

Realizado por: Tenesaca Y., 2023.

4.2.4. Respuesta de inhibición para el factor A por el factor B

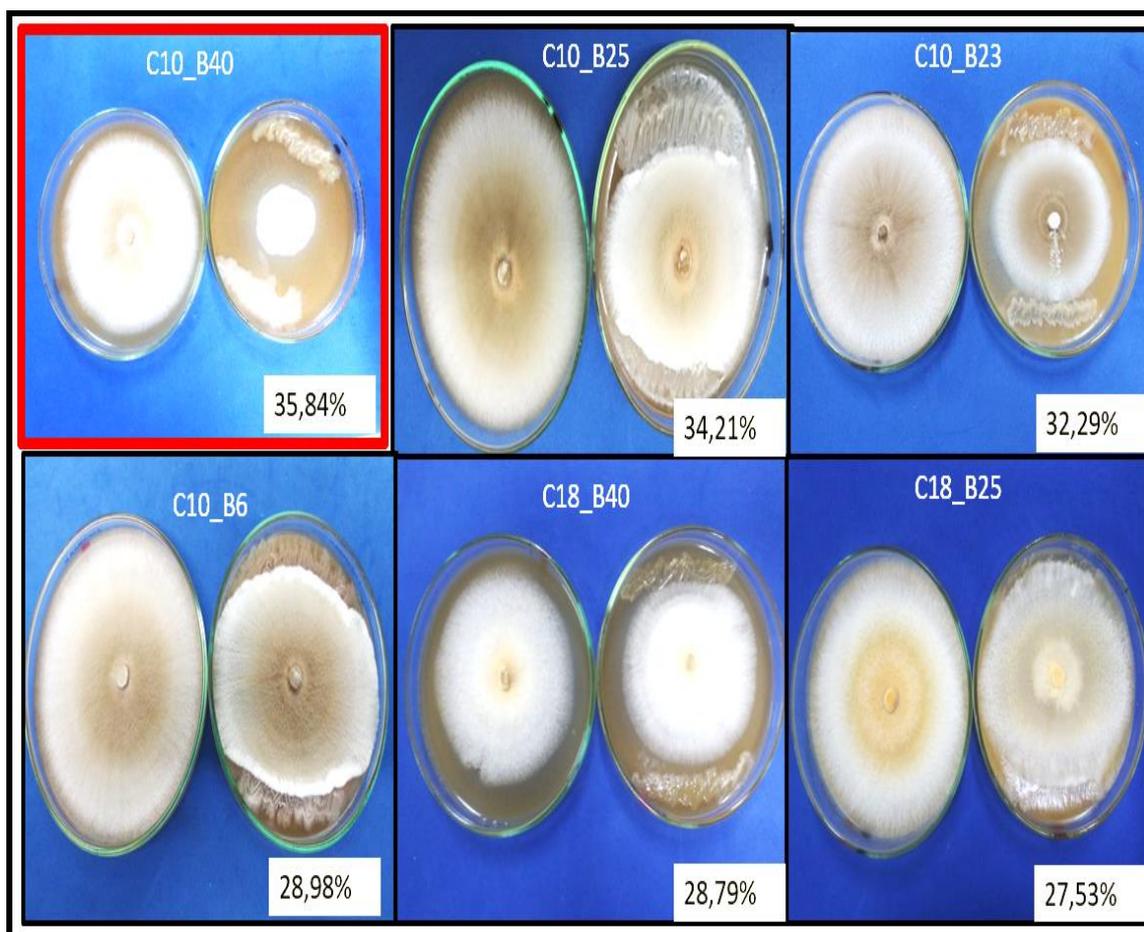


Ilustración 4-8: Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor A (Cepa) por el factor B (Bacteria)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

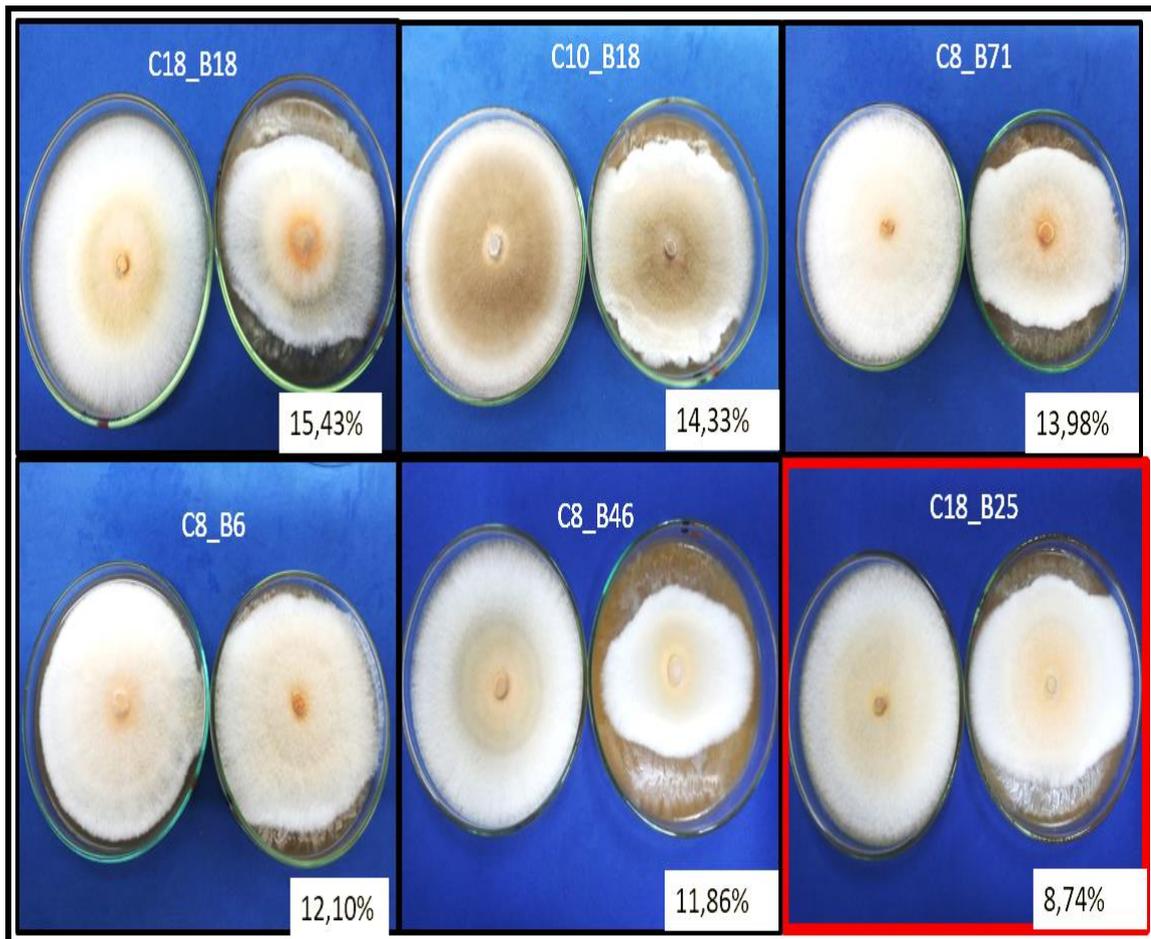


Ilustración 4-9: Interacción con menor porcentaje inhibición del factor A (Cepa) por el factor B (Bacteria)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

La interacción de primera orden (Cepa*Bacteria) en la prueba de Tukey se observaron nueve grupos estadísticos; en el grupo “a” tenemos la interacción de la cepa C10*bacteria B40 con un promedio de 35,84, seguido por el grupo “ab” con la interacción de la cepa C10*bacteria B25 con un promedio de 35,21, por otro lado, el grupo “abcd” tenemos la interacción de la cepa C10*bacteria B6, cepa C18*bacteria B40, cepa C18*bacteria B25, cepa C8*bacteria B40 y de la cepa C18*bacteria B8 con un valor promedio de 27,97, para el grupo “abcde” encontramos a la interacción de la cepa C10*bacteria B10, cepa C18*bacteria B10, cepa C8*bacteria B23, cepa C18*bacteria B46, cepa C18*bacteria B23, cepa C8*bacteria B8, cepa C18*bacteria B48, cepa C10*bacteria B48, cepa C10*bacteria B14, cepa C18*bacteria B6, cepa C18*bacteria B71, cepa C10*bacteria B71, cepa C10*bacteria B64, cepa C8*bacteria B10, cepa C10*bacteria B46, cepa C18*bacteria B14, cepa C10*bacteria B8, cepa C8*bacteria B25, cepa C8*bacteria B48 y la cepa C8*bacteria B14 con un promedio entre medias de 22,07, ubicamos al grupo “bcde” con la interacción de la cepa C8*bacteria B18 y la cepa C18*bacteria B64 con un promedio de 16,65, el grupo “cde” encontramos la interacción de la cepa C18*bacteria B18 y la cepa

C10*bacteria B18 con un promedio de 14,88, mientras que para el grupo “**de**” encontramos la interacción de la cepa C8*bacteria B71, cepa C8*bacteria B6 y cepa la C8*bacteria B46 con un valor promedio de 12,65, finalmente, ubicamos al grupo “**e**” con la interacción de la cepa C8*bacteria B64 con un promedio de 8,74 (ANEXO H).

4.2.5. Respuesta de inhibición para el factor A por el factor C

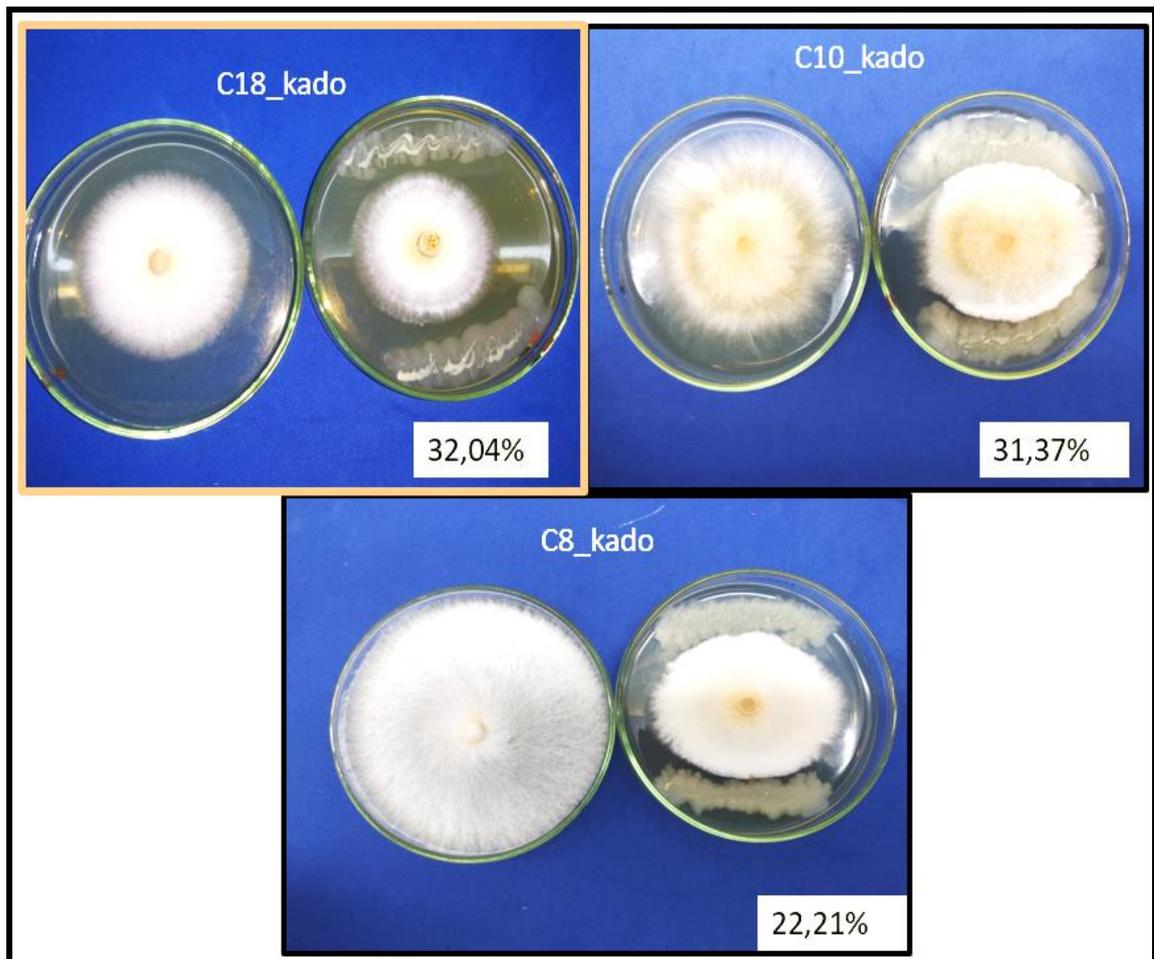


Ilustración 4-10: Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor A (Cepa) por el factor C (Medio)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

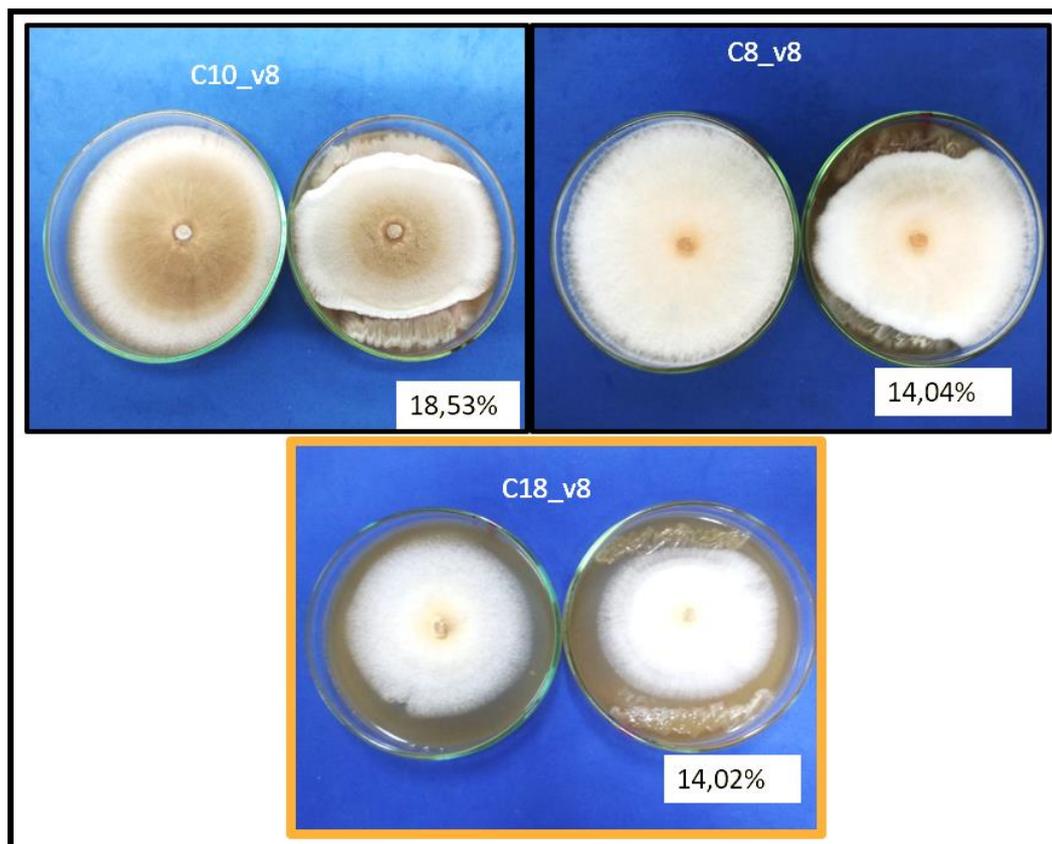


Ilustración 4-11: Interacción con menor porcentaje inhibición del factor A (Cepa) por el factor C (Medio)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

En la prueba de Tukey para en la interacción cepa*medio presentaron cuatro grupos estadísticos; en el grupo “a” tenemos la interacción de la cepa C18*KADO 523 y la cepa C10*KADO 523 con un promedio de 31,71, seguido por el grupo “b” con la interacción de la cepa C8* KADO523 con un promedio de 22,21, por otro lado, el grupo “bc” tenemos la interacción de la cepa C10*V8, con promedio de 18,53, por último, ubicamos al grupo “c” con la interacción de la cepa C8*V8 y la cepa C18*V8 con un valor promedio de 14,02 (Tabla 4-7).

Tabla 4-7: Prueba de Tukey al 5% de la interacción factor A por el factor C

Cepa	Medio	Medias	Grupos
C18	KADO	32,04	a
C10	KADO	31,37	a
C8	KADO	22,21	b
C10	V8	18,53	bc
C9	V8	14,04	c
C18	V8	14,02	c

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

4.2.6. Respuesta de inhibición para el factor B por el factor C

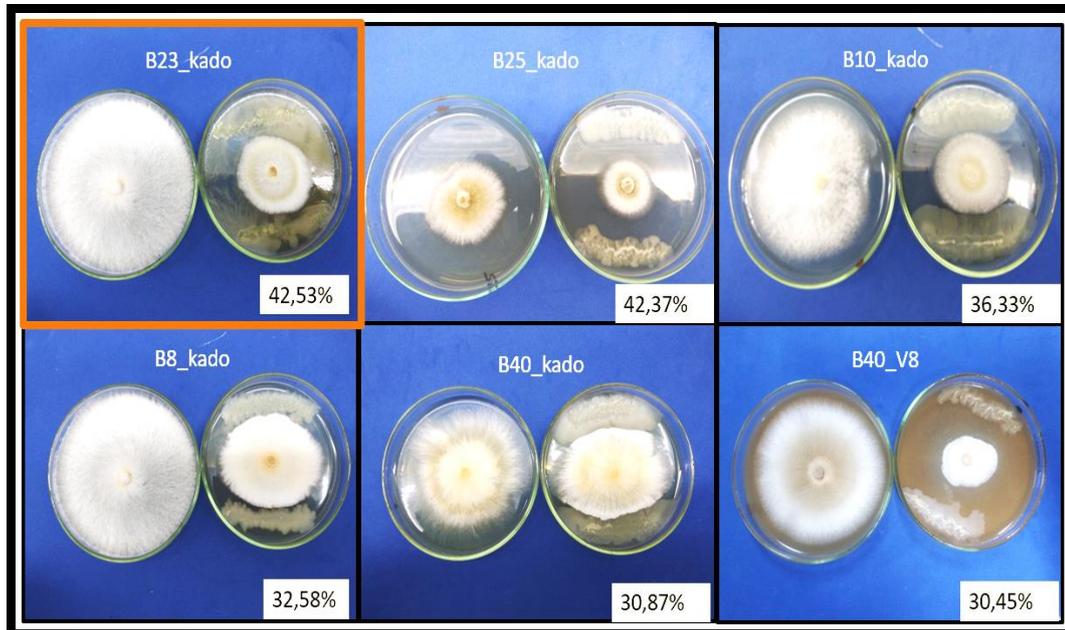


Ilustración 4-12: Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor B (Bacteria) por el factor C (Medio)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

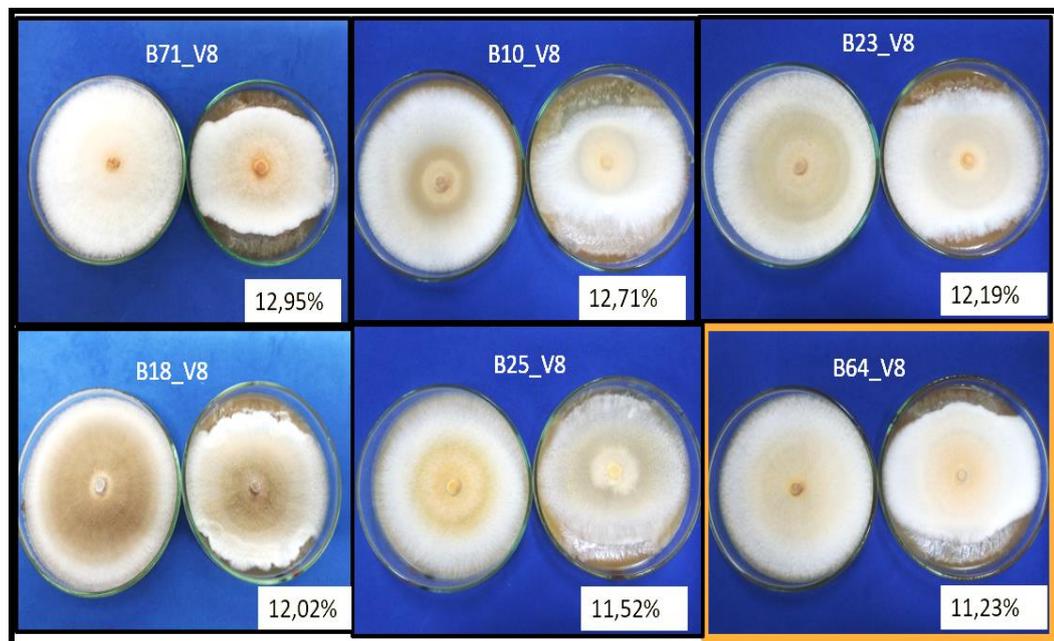


Ilustración 4-13: Interacción con menor porcentaje inhibición del factor B (Bacteria) por el factor C (Medio)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

En la prueba de Tukey al para la interacción bacteria*medio se obtuvieron doce grupos estadísticos; en el grupo “a” tenemos la interacción de la bacteria B23*KADO 523 y la bacteria B25*KADO 523 con un promedio de 42,45, seguido por el grupo “ab” con la interacción de la bacteria B23*KADO 523 con un promedio de 36,33, por otro lado, el grupo “abc” tenemos la interacción de la bacteria B8*KADO 523 con un promedio de 32,58, para el grupo “abcd” encontramos a la interacción de la bacteria B40*KADO 523 y bacteria B23*V8 con un promedio entre medias de 30,66, ubicamos al grupo “bcde” con la interacción de la bacteria B48*KADO 523 con un promedio de 27,52, el grupo “bcdef” encontramos la interacción de bacteria B71*KADO 523 con un promedio de 25,21, el grupo “bcdefg” encontramos la interacción de la bacteria B6*KADO 523 y la bacteria B6*kado523 con un valor promedio de 23,85, el grupo “cdefg” encontramos la interacción de la bacteria B14*V8, la bacteria B64*KADO 523, la bacteria B18*KADO 523 Y la bacteria B14*KADO 523 con un valor promedio de 19,70, el grupo “defg” encontramos la interacción de la bacteria B6*V8 con un promedio de 17,42, para el grupo “efg” encontramos la interacción de la bacteria B46*V8, la bacteria B8*V8 y la bacteria B48*V8 con un valor promedio de 14,83, mientras que para el grupo “fg” encontramos la interacción de la bacteria B71*V8, bacteria B10*V8, bacteria B23*V8, bacteria B18*V8 y bacteria B25*V8, con un valor promedio de 12,28, finalmente, ubicamos al grupo “g” con la interacción de la bacteria B64*V8 con un promedio de 11,23 (ANEXO I).

4.2.7. Respuesta de inhibición para el factor A por el factor B por el factor C

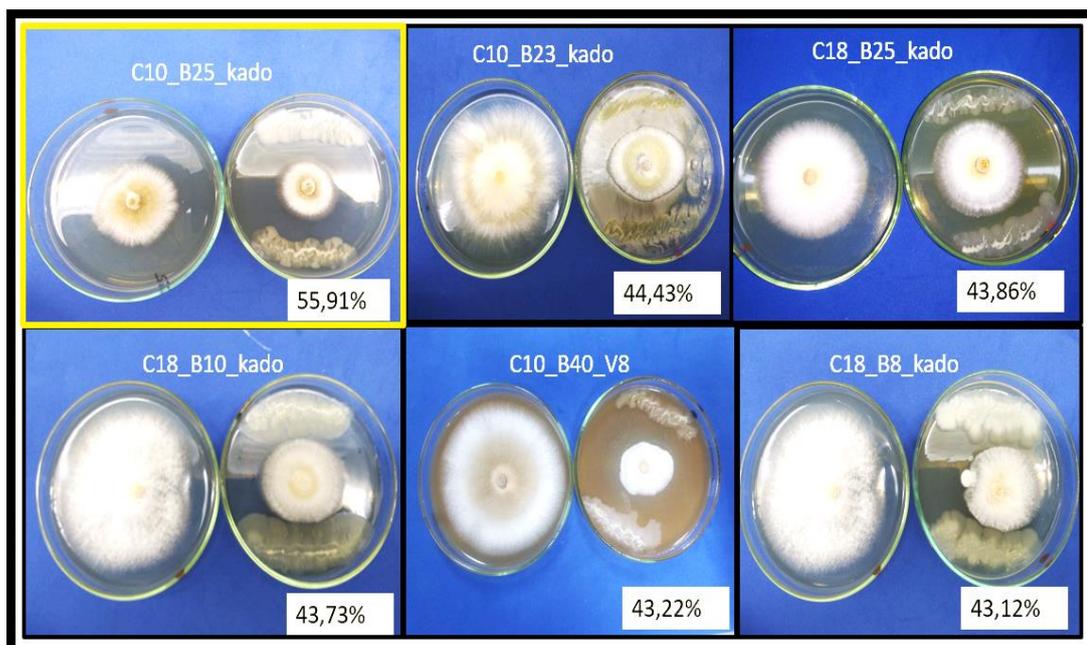


Ilustración 4-14: Interacción con mayor porcentaje inhibición del factor A (cepa) por el factor B (Bacteria) y por el factor C (Medio)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

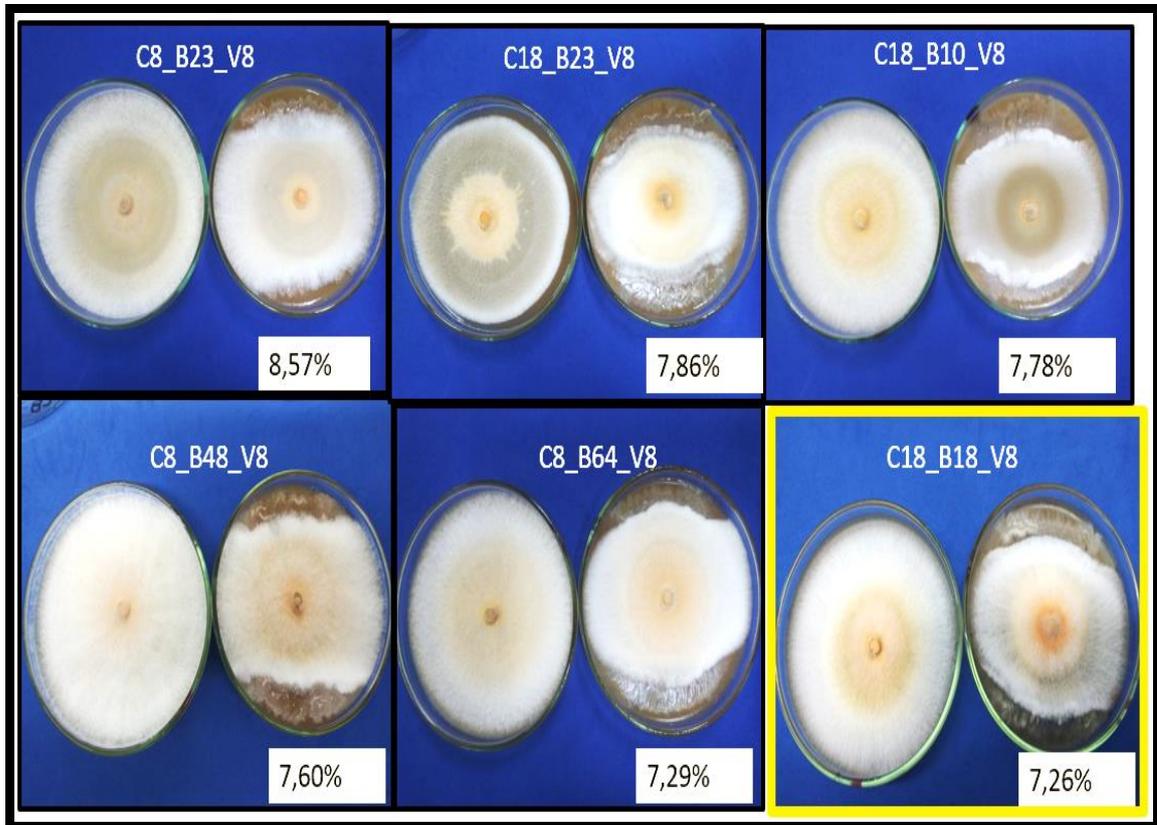


Ilustración 4-15: Interacción con menor porcentaje inhibición del factor A (cepa) por el factor B (Bacteria) y por el factor C (Medio)

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

En la prueba de Tukey para en la interacción cepa*bacteria*medio presentaron catorce grupos estadísticos; en el grupo “a” tenemos la interacción de la cepa C10*bacteria B25*KADO 523 con un promedio de 55,91, seguido por el grupo “ab” con la interacción de la cepa C10*bacteria B23*KADO 523 y la cepa C18*bacteria B25*KADO 523 con un valor promedio de 44,15, por otro lado, el grupo “abc” tenemos la interacción de la cepa C18*bacteria B10*KADO 523 con un promedio de 43,73, para el grupo “abcd” encontramos a la interacción de la cepa C10*bacteria B40*V8 y la cepa C18*bacteria B8*KADO 523 con un promedio entre medias de 43,17, ubicamos al grupo “abcde” con la interacción de la cepa C8*bacteria B23*KADO 523 con un promedio de 42,59, el grupo “abcdef” encontramos la interacción de la cepa C18*bacteria B23*KADO 523 con un promedio de 40,56, el grupo “abcdefg” encontramos la interacción de la cepa C10*bacteria B10*KADO 523 con un promedio de 39, el grupo “abcdefgh” encontramos la interacción de la cepa C18*bacteria B40*KADO 523, cepa

C10*bacteria B6*KADO 523, cepa C18*bacteria B71*KADO 523, cepa C8*bacteria B8*KADO 523, cepa C10*bacteria B46*KADO 523, cepa C10*bacteria B71*KADO 523, cepa C8*bacteria B48*KADO 523, cepa C8*bacteria B40*KADO 523, cepa C18*bacteria B6*KADO 523, cepa C10*bacteria B64*KADO 523 y la cepa C10*bacteria B40*KADO 523 con un valor promedio de 34,44, para el grupo **“bcdefgh”** encontramos la interacción de la cepa C8*bacteria B25*KADO 523, cepa C18*bacteria B48*KADO 523, cepa C8*bacteria B10*KADO 523, cepa C18*bacteria B46*KADO 523, cepa C10*bacteria B48*KADO523, cepa C10*bacteria B6*V8, cepa C8*bacteria B40*V8, cepa C10*bacteria B8*KADO 523, cepa C18*bacteria B46*KADO 523, cepa C18*bacteria B18*KADO 523, cepa C8*bacteria B14*KADO 523, cepa C18*bacteria B40*KADO 523, cepa C10*bacteria B14*KADO 523, cepa C10*bacteria B14*V8, cepa C18*bacteria B14*KADO 523, cepa C18*bacteria B64*KADO 523, cepa C10*bacteria B23*KADO 523, cepa C18*bacteria B14*V8, cepa C8*bacteria B18*KADO 523, cepa C10*bacteria B48*V8, cepa C18*bacteria B48*V8 y la cepa C8*bacteria B8*V8, con un promedio de medias de 22,61, el grupo **“cdefgh”** encontramos la interacción de la cepa C8*bacteria B10*V8 con un promedio de 16,06, el grupo **“defgh”** encontramos la interacción de la cepa C10*bacteria B8*V8 con un promedio de 15,55, para el grupo **“efgh”** encontramos la interacción de la bacteria la cepa C8*bacteria B18*V8 y la cepa C10*bacteria B18*KADO 523 con un valor promedio de 15,05, para el grupo **“fgh”** encontramos la interacción de la cepa C18*bacteria B6*V8, la cepa C10*bacteria B10*V8, la cepa C8*bacteria B71*KADO 523, la cepa C8*bacteria B71*V8, la cepa C10*bacteria B64*V8, la cepa C10*bacteria B18*V8, la cepa C8*bacteria B46*KADO 523 y la cepa C10*bacteria B71*V8 con un valor promedio de 13,79, mientras que, para el grupo **“gh”** tenemos la interacción de la cepa C8*bacteria B14*KADO 523, la cepa C18*bacteria B64*V8, la cepa C10*bacteria B25*V8, la cepa C18*bacteria B71*V8, la cepa C8*bacteria B6*KADO 523 y la cepa C8*bacteria B6*V8 con un valor promedio de 12,06, por último, ubicamos al grupo **“h”** con la interacción de la cepa C18*bacteria B8*V8, la cepa C18*bacteria B25*V8, la cepa C10*bacteria B46*V8, la cepa C8*bacteria B25*V8, la cepa C8*bacteria B46*V8, la cepa C8*bacteria B64*KADO 523, la cepa C8*bacteria B23*V8, la cepa C18*bacteria B23*V8, la cepa C18*bacteria B10*V8, la cepa C8*bacteria B48*V8, la cepa C8*bacteria B64*V8 y la cepa C18*bacteria B18*V8 con un promedio de 9,31 (**ANEXO J**).

4.3. Discusión

Los aislados bacterianos como son las cepas B6, B8, B10, B18, B25, B37, B53, B59, B68, B69 y B71 correspondientes al género *Bacillus* sp. con porcentaje de identidad promedio de 82,57% presentaron colonias con pigmentaciones blanco (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) y amarillo (Pantone 12-0633 Tcx Canary Yellow), con formas irregular y circular, elevación plana y con bordes lobulados a enteros mismos que concuerdan a los resultados obtenidos por Vera et al., (2020) quién presentó una forma irregular elevación planoconvexa y color blanquecino para este género. Por otro lado, la cepa B14 que fue representado por el género *Stenotrophomonas* sp. con un porcentaje de identidad promedio de 92,68%, mostró una pigmentación amarilla (Pantone 12-0633 Tcx Canary Yellow) con una forma Circular, elevación plana y bordes enteros resultados similares a los de Pérez et al., (2020 p.7) lo que presentaron coloración traslúcida, mucosidad ligera, bordes lisos y elevación plana. Las cepas B23 y B33 sobrellevados por el género *Sphingobacterium* sp. con un porcentaje de identidad promedio 86,83% presentaron una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) a amarillo (Pantone 12-0633 Tcx Canary Yellow) con una forma circular e irregular, elevación plana y bordes de enteros a ondulados resultados que presentan parecido a resultados obtenidos por Lopardo et al., (2021) presentaron colonias circulares lisas, convexas, opacas y exhiben un débil pigmento amarillo intracelular. La cepa B40 corresponde al género *Mammaliicoccus* presentó forma circular con presencia de halo interno, elevación plana, borde entero y pigmentación amarilla con porcentaje de identidad del 94,88% resultados que presentaron a Diaz (2017, pág. 5) que menciona las colonias suelen ser opacas blancas o crema y a veces amarillas o naranja de forma circular. La cepa B46 que corresponde al género *Brucella*, con un porcentaje de identidad promedio 97,13% manifestaron una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) presento forma circular, elevación plana, borde entero, Freer et al., (2001 p.8) menciona que *Brucella* es una bacteria que es observada al microscopio de luz como bacilos. Mientras que la cepa B48 identificado por el género *Achromobacter* sp con porcentaje de identidad del 91,68% mostró una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer) con una forma circular, elevación plana y borde entero resultados que tienen similitud con Lopardo et al., (2021) menciona que las colonias de aspecto cultural similar a las de enterobacterias, formando colonias planas o ligeramente convexas, de borde entero , finalmente, la cepa B64 por el género *Brachybacterium* sp. con un porcentaje de identidad del 89,76% presentó una pigmentación blanca (Pantone 11-4201 Cloud Dancer), forma irregular, elevación plana y borde lobulado resultados que difieren a los obtenidos por Parera (2012) lo cual presentan una forma irregular, elevación elevada con bordes enteros y color amarillo claro.

En cuanto al porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del factor A ejercida por las cepas *Moniliophthora roreri* se obtuvo el mejor porcentajes promedio con las cepas C10 y C18, con el 23,99%, por otro lado, para el factor B cepas bacterianas se logró el mejor promedio de inhibición con la cepa B40 (*Mammaliicoccus*) con el 30,66% Se ha reportado en mamíferos como agente infecciosa por lo cual no se recomendaría realizar antagonismo con este género y finalmente, para el factor C tipo de medio de cultivo se encontró el mayor porcentaje de inhibición con el medio de cultivo KADO 523 con el 28,54%. Resultados congruentes mismo que presentaron resultados consistentes, sin las enormes variaciones en los resultados reportadas en estudios similares realizados con anterioridad García y Herrera (2007, pág.7).

En relación con la interacción que se obtuvo del factor A por el factor B, que se puede observar en el ANEXO I; se encontró que los mejores resultados de inhibición del antagonista se obtuvieron con la bacteria del género *Bacillus* sp. con un porcentaje de inhibición de 34,21% mismos resultados se pueden comparar con los obtenidos en el estudio *in vitro* realizado por Suarez y Alba (2013), los cuales estudian el efecto antagonista de hongos y una bacteria, en el cual, la inhibición del crecimiento en la bacteria se hace evidente. Mismos resultados se presentaron bajo condiciones de campo en el experimento realizado por Villamil, et al (2015), en Colombia donde el efecto inhibitorio de *Bacillus* sp. es alto frente a la *Moniliophthora roreri*.

Se determinó, que en la investigación realizada por Castro (2022 p.4) la antibiosis es el principal mecanismo de movimiento de *B. subtilis* contra los patógenos *M. roreri* y *P. palmivora*, a través de la formación de lipopéptidos antifúngicos incluyendo sulfactina, iturina y fengicinas, diferentes pocos mecanismos conocidos es la competencia por el espacio, la inducción de la resistencia y el aumento de promotor, incluyendo la solubilización de P, la fijación de nitrógeno, la producción de auxina y amoníaco.

Por otro lado, Vitae (2007, pág. 34) difiere con los resultados obtenidos en donde menciona que *Bacillus brevis* es una bacteria que no es útil para el control biológico de hongos fitopatógenos, aunque si produce el antibiótico conocido como gramacidina S, utilizado en el tratamiento de numerosas enfermedades infecciosas en el hombre y secretan una toxina mosquicida aprovechada en el control de moluscos.

En cuanto a con la interacción que se obtuvo del factor A por el factor C, que se puede observar en el ANEXO J; se mostró que los mejores resultados de inhibición del antagonista se obtuvieron con el medio de cultivo KADO 523 con un porcentaje de inhibición promedio de

31,7% frente a la cepa *Moniliophthora roreri*. mismos resultados similares a los Iraci et al (2013 pág. 36) que menciona que el uso del medio de cultivo 523 y 523 modificado permitieron un mayor desempeño de las colonias además de una mayor inhibición de la presencia de microorganismos contaminantes.

Finalmente, con la interacción que se obtuvo del factor B por el factor C, que se puede observar en la Tabla 4-7; se mostró que los mejores resultados de inhibición del antagonista se lograron con la bacteria del género *Bacillus sp.* con un porcentaje promedio de inhibición de 42,45% y el medio de cultivo KADO 523, resultados similares se presentó en una investigación de banano que en medio de cultivo KADO 523 presentó mayor inhibición antagónica el género *Bacillus sp.* con un porcentaje mayor al 40% frente a *Fusarium oxysporum*. (Guarderas, 2022, pág. 5).

Para el aislamiento de bacterias se utilizó el medio KADO 523 y medio V8 diluido para proporcionar diferentes nutrientes y aislar varios tipos de bacterias. La dilución del medio 523 permitió aislar colonias con características macroscópicas de actinobacterias conocidos por ser controladores biológicos. Según Wang et al (2014, pág. 30), al diluir el medio de cultivo una décima parte de su concentración inicial se puede aislar más fácilmente.

Varias especies de *Bacillus* han demostrado ser agentes biocontroladores contra fitopatógenos y a su vez se los ha identificado como bacterias promotoras del crecimiento en las plantas (PGPR por sus siglas en inglés) (Ramírez et al., 2021, pág. 35).

Según Bubicic, et al (2019, pág. 12) el género bacteriano *Bacillus* presenta una ventaja frente a otros microorganismos biocontroladores y es la producción de esporas, esto le confiere la capacidad de tolerar las diversas condiciones medioambientales y en el momento de producir un biocontrolador comercial es más estable durante más tiempo, también presenta la habilidad de sintetizar una gran variedad de metabolitos secundarios que influyen en la antibiosis contra fitopatógenos.

En el ANEXO G, se pueden observar la interacción del factor A, factor B y el factor C; donde los mejores resultados de porcentaje de inhibición, es de la cepa 10 frente a la bacteria del género *Bacillus sp.* en medio Kado, con porcentajes que van del 55% al 45%, presentando un alto porcentaje de inhibición frente a las demás cepas de bacterias, dichos resultados son similares a los obtenidos por Guato et al (2019, pág. 394), los mismos que realizan su trabajo de investigación con bacterias promotoras de crecimiento las mismas que analizan el potencial biocontrolador frente a hongos fitopatógenos donde demostraron que bacterias del género

Bacillus sp. inhiben el desarrollo micelial y la producción de conidios, lo cual también hay que mencionar que el medio también tuvo una gran influencia para la obtención de los resultados.

Así mismo en la investigación realizada por Avila et al (2020, pág. 8), donde realiza su investigación con bacterias del mismo género, pero frente a diferentes hongos fitopatógenos, determina que el género *Bacillus* tiene un efecto inhibitorio sobre hongos fitopatógenos el cual lo atribuye a la producción de antibióticos y compuestos volátiles como el cianuro de hidrogeno los cuales son responsables de la inhibición del crecimiento micelial.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

En la caracterización cultural de varias cepas (B14, B18, B33, B46, B48, B53), se observó que presentaban una forma circular, elevación plana, borde entero y pigmentación blanca. Otras cepas (B23, B59) exhibieron una forma irregular, elevación plana, borde ondulado y pigmentación blanca. Por otro lado, algunas cepas (B6, B8, B10, B25, B37, B64, B69, B71) mostraron una forma irregular, elevación plana, borde lobulado y pigmentación blanca. Finalmente, algunas cepas (B40, B68) destacaron por tener una forma circular con presencia de halo interno, elevación plana, borde entero y pigmentación amarilla.

Se identificó 4 fylum diferentes (con 66,67% Bacillota, con 22,23% Pseudomonadota, con 5,55% Bacteroidota y Actinomycetota). Al mismo tiempo, están dentro de 6 clases diferentes (con 66,67% Bacili, con 11,12% Gammaproteobacteria, con 5,6% para cada una de la clase Sphingobacteriia, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, y Actinomycetes). Por lo tanto, corresponden al orden (Bacillales con 66,67%, Xanthomonadales con 11,12%, Sphingobacteriales, Hyphomicrobiales, Burkholderiales, Micrococcales con el 5,6% para cada uno). Por ello, se identificaron 7 familias diferentes (con 61,1% Bacillaceae, con 11,11% Xanthomonadaceae, con el 5,6% para cada uno Sphingobacteriaceae, Staphylococcaceae, Brucellaceae, Alcaligenaceae y Dermabacteraceae) que pertenecen a 7 géneros diferentes con 61,1% *Bacillus*, 11,1% *Stenotrophomonas* y con 5,6% para cada uno pertenecen a *Mammaliicoccus*, *Brucella*, *Achromobacter*, *Sphingobacterium* y *Brachybacterium*. como microorganismos bacterianos asociadas a frutos de cacao en la provincia de Orellana.

Para inhibición de crecimiento micelial la cepa C10 alcanzó el mayor porcentaje de inhibición con una media de 24,95 % para el factor Cepas *Moniliophthora roreri*, la cepa B40 alcanzó un 30,66 % de inhibición para el factor cepas bacterianas y finalmente el medio de cultivo KADO alcanzó un 28,54 % de inhibición para el factor medios de cultivo.

Al evaluar la interacción entre factores se obtuvo para el factor AxB la cepa C10 y bacteria B40 con un porcentaje de inhibición de 35,84 %, para el factor AxC la cepa C18 en medio KADO

523 con un 32,04 % de inhibición, para la interacción BxC la bacteria B23 en medio KADO 523 un 42,53 % de inhibición y finalmente en la interacción AxBxC la cepa C10, la bacteria B25 y en medio KADO 523 un 55,91 % de inhibición.

5.2. Recomendaciones

Realizar pruebas en campo con las diferentes cepas de bacterias *Bacillus* sp. como potencial de inhibición asociadas a frutos de cacao en la provincia de Orellana.

Identificar los diferentes mecanismos de inhibición de las cepas bacterianas para la aplicación práctica de los microorganismos.

Utilizar las secuencias de código de codificación beta-subunidad de la ARN polimerasa (rpoB) como una herramienta alternativa para la identificación genotípica bacteriana.

GLOSARIO

Antagonismo: Es la relación que involucra a dos especies de organismos contrarios, en la cual uno de los dos, afecta la vida del otro, ya sea inhibiendo parcial o totalmente su crecimiento o incluso matándolo (Ulloa et al., 2006, pág. 26).

Caracterización: Es un tipo de descripción cualitativa que puede recurrir a datos o a lo cuantitativo con la finalidad de adquirir mayor conocimiento sobre algo. Para cualificar ese algo previamente se deben identificar y organizar los datos; y a partir de ellos, describir de una forma estructurada; y posteriormente, establecer su significado (Sánchez, 2011, pág. 189).

Cepa: Cultivo que consiste en células diploides, comúnmente fibroblásticas, que pueden volverse a dispersar y cultivar un número finito de veces (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125) .

Electroforesis: Se usa para separar moléculas de ADN, ARN o proteínas en función de su tamaño y carga eléctrica. Se usa una corriente eléctrica para mover las moléculas a través de un gel o de otra matriz. Los poros del gel o la matriz actúan como un tamiz, lo cual permite que las moléculas más pequeñas se muevan más rápido que las moléculas más grandes (NHGRI, 2023).

Esporulación: Una célula bacteriana forma una espora bajo circunstancias adversas (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

Gel de agarosa: Agar altamente purificado (Ryan y Ray, 2017, pp. 80-125).

In vitro: Que sucede dentro de un tubo de ensayo (Ryan y Ray, 2017, pp. 80-125).

Incidencia: El número de casos nuevos de una enfermedad dentro de un periodo especificado (Ryan y Ray, 2017, págs. 80-125).

BIBLIOGRAFÍA

1. **ABAD; A.; et al.** *El cacao en la Costa ecuatoriana*. [en línea] Ecuador: Sociedad impresa, 2020. [Consulta: Julio 19 2023.] Disponible en: <https://revistas.uasb.edu.ec/index.php/eg/article/download/1442/1349?inline=1>
2. **ANECACAO.** *La Asociación Nacional de Exportadores e Industriales de Cacao*. [en línea] Ecuador: Consulta Stream, 2020. [Consulta: junio 20, 2023.] Disponible en: <https://anecacao.com/cacao-en-el-ecuador/historia-del-cacao/#>
3. **AVILA, N.; et al.** “Identificación y actividad antagónica in vitro de aislados de bacterias contra hongos de importancia agrícola”. *Revista bio ciencias* [en línea]. 2020, vol.1 (2), págs.1-85. [Consulta: 20 agosto 2023]. ISSN 1542-2024. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-33802020000100317&script=sci_arttext&tlng=es
4. **BATISTA, Lérido.** *El Cultivo de Cacao* [en línea]. Argentina: Cedef, 2009. [Consulta: 20 Marzo 2023.] Disponible en: <http://www.cedef.org.do/publicaciones/guias/download/cacao.pdf>.
5. **BUBICI G.; et al.** “Agentes de control biológico contra la marchitez por Fusarium del banano”. *Scielo* , vol.5, n°1, (2019), pág.19.
6. **CASTRO JUNCO, Lennin Alejandro.** Bacillus subtilis en el control de Phytophthora palmivora y Moniliophthora roreri en mazorcas de cacao (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Los Ríos-Ecuador. 2022. págs. 4-40.
7. **CARVAJAL, J.; et al.** “Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de Moniliophthora Roreri Cif & Par en Theobroma Cacao L. bajo condiciones de campo”. vol. 68, n° 1(2015). págs. 41-50. ISSN: 7441-7450.
8. **CHUYMA, Mario.** Prevención de moniliasis (Moniliophthora roreri) en frutos de cacao orgánico. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de Perú. Lika-Perú. 2020. págs. 1-23. [Consulta: 2015-07-23]. Disponible en: <https://api->

repositorio.unia.edu.pe/server/api/core/bitstreams/5c80deb1-7ded-477d-b3d9-d7a7a43f03b5/content.

9. **DÍAZ LUDEÑA, L. P.** Bacillus subtilis en el control de Phytophthora palmivora y Moniliophthora roreri en mazorcas de cacao. (Trabajo de titulación) (Titulación). Universidad Central del Ecuador. Quito-Colombia. 2017. págs. 2-8.
10. **DUMBLE.** Cacao morfología y taxonomía [blog]. Quito: Edimofologia, 2013 [Consulta: 14 marzo 2023.]. Disponible en: <http://fiat-pe.blogspot.com/2013/11/cacao-morfologia-y-taxonomia.html>.
11. **FERNANDEZ, Laura.** Bacteriología y Virología Médica [en línea]. Quito-Ecuador: Libros Medicina. 2022. [Consulta: 20 Marzo 2023.] Disponible en: https://clasesparticularesdebioquimica.files.wordpress.com/2016/05/seccion_1_libro_temas_byv_medica.pdf.
12. **FREER, Enrique & CASTRO ARCE, Rocío Brucella.** “Una bacteria virulenta carente” *San José*, vol. 22, n°1 (2001), págs. 9-74.
13. **GARCÍA RICO R. E. & HERRERA ARIAS F. C.** “Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar in vitro”. *Pamplona*, vol.5, n°1, (2022), pág. 7.
14. **GUARDERAS LOGROÑO, Daniela Alejandra.** “Antagonismo in vitro de bacterias y hongos endófitos y de la rizosfera de banano (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador. 2022. págs. 20-23.
15. **GUATO, J; et al.** “Bacterias promotoras del crecimiento en plantas con potencial agente biocontrolador a *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*, y *Moniliophthora roreri*”. *Scielo* [en línea] 2022, vol. 10(2). pág. 6. [Consulta: 20 agosto 2023]. ISSN 1542-8588. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172019000300010
16. **GUERRERO, Guillermo.** “El Cacao ecuatoriano Su historia empezó antes del siglo XV”. *Revista Lideres* [en línea], 2018, vol.1 (2), págs. 1-89. [Consulta: 20 agosto 2023]. ISSN

0250-0874. Disponible en: <https://www.revistalideres.ec/lideres/cacao-ecuatoriano-historia-empezo-siglo.html>.

17. **IRACI TUMELERO Andréia; et al.** “Evaluación de medios de cultivo para *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum* a partir de semillas” *Química Viva*, vol. 12, n°4 (2022), pág. 14.
18. **KHAN, F.; et al.** “Diversity and the role of endophytic bacteria”. *Botánica Servica*. vol. 44, n° 2 (2020), págs. 103-120.
19. **LOOR, María Aracely; et al.** “Caracterización de bacterias endófitas formadoras de endosporas procedentes de *Theobroma cacao* L. en Quinindé, Esmeraldas, Ecuador”. *Scielo* [en línea], 2021, vol. 1 (2), págs. 2-3. [Consulta: 20 agosto 2023]. ISSN: 0253-5785. Disponible en: <http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/proximos/cag04.pdf>.
20. **LOPARDO, Horacio.** *Asociación Argentina Microbiológica* [en línea]. Ecuador: Eterobacterias, 2001. [Consulta: 20 septiembre 2023]. Disponible en: <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/Parte21Enterobacterias.pdf>.
21. **MELNICK, R.; et al.** “Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases”. *Biological Control*, vol. 57 n° 3, (2011). págs. 236-245.
22. **MENDOZA, L.; et al.** “Impacto socioeconómico de la producción y comercialización del cacao de los pequeños productores”. *Revista Ciencia*, vol. 6, n° 4, (2021), págs. 1-98.
23. **PALLAZHCO, Dario.** *Análisis espacial de la moniliasis en el cultivo de cacao en tres zonas de la provincia del guayas* [en línea]. Guayaquil-Ecuador: Impresiones Legibles, 2021. [Consulta: 20 septiembre 2023]. Disponible en: <https://ciencia-agraria.edu.ec/Archivos/PALLAZHCO%20MONTA%C3%91O%20RUBEN%20DARIO.pdf>.
24. **PÉREZ PÉREZ, René.** “Aislamiento y caracterización de *Stenotrophomonas* asociada a rizosfera de maíz (*Zea Mays* L.)” *Readalyc Cultivos tropicales*, vol.3, n°2 (2022), pág.65.
25. **RAMÍREZ, V.; et al.** “*Bacillus cereus* MH778713 provoca la protección de la planta de tomate contra *Fusarium oxysporum*” . *Microbiología aplicada*. Vol. 2, n°2 (2021). págs.78.

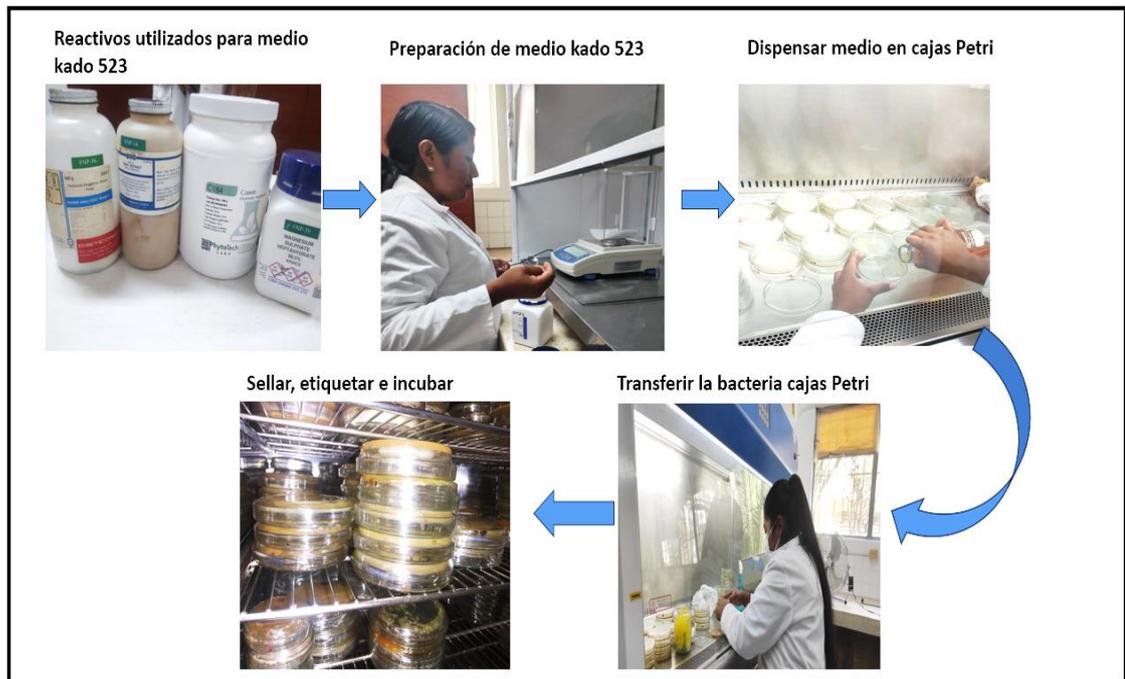
26. **RYAN, D., & K RAY, C.** “Sherris. Microbiología médica”. *McGraw Hill* [en línea], 2017, vol.2, págs. 1-9. [Consulta: 20 abril 2023]. ISSN 1028-9854. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169§ionid=162978735>
27. **SÁNCHEZ, Fernando; et al.** “Características culturales de algunos hongos ectomicorrícicos en cultivo puro”. *Rev. Iberoam Micol* [en línea], 2000, (España) 17(1), pág. 18. [Consulta: 10 agosto 2023]. ISSN 2301-1520. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/127134.pdf>
29. **SCHOCH, CL; et al.** “NCBI Taxonomy: una actualización completa de la curación, los recursos y las herramientas”. *Oxford*. vol.5, n°1, (2020), págs.1-8.
30. **SOLIS, Z.; et al.** *INIAP. Las enfermedades del cacao y las buenas prácticas agronómicas para su manejo*. Ecuador: Libros Públicos, 2021. págs.5.
31. **SOSA, Patricia.** Estudio del cacao fino de aroma. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de Hemisferios, Quito-Ecuador. 2022. págs. 20-23. [Consulta: 2023-07-23]. Disponible en: <http://dspace.uhemisferios.edu.ec:8080/jspui/bitstream/123456789/818/1/ESTUDIO%20DE%20L%20CACAO%20FINO%20DE%20AROMA.pdf>.
32. **SUÁREZ, L. & ALBA, R.** “Aislamiento de microorganismos para el control biológico de *Moniliophthora roreri*. *Acta Agronómica*”. *Redalyc* [en línea], 2013, vol.6 (4), págs. 370-378. [Consulta: 20 agosto 2023]. ISSN 1090-7807. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1699/169930016012.pdf>
33. **UKUDA, Kazumasa; et al.** 2016. “Molecular Approaches to Studying Microbial Communities: Targeting the 16S Ribosomal RNA Gene”. *Journal of UOEH* [en línea], 2016, vol.38(3), págs.7-12. [Consulta: 20 Agosto 2023] ISSN 2096-8520. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/308040658_Molecular_Approaches_to_Studying_Microbial_Communities_Targeting_the_16S_Ribosomal_RNA_Gene
34. **ULLOA, Miguel; & HANLIN, Richard.** *Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología*. USA: The Phytopathological Society, 2006, págs.1-223.

35. **VARGAS, Emma; et al.** “Recorrido histórico de la importancia del cacao para la economía de Ecuador. Sinergias Educativas”, *Scielo*, vol.3, n°2 (2022). págs. 2-3.
36. **VERA, Aracely; et al.** Caracterización de bacterias endófitas formadoras de endosporas procedentes de *Theobroma cacao* L. en Quinindé, Esmeraldas, Ecuador. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de Guayaquil, Guayaquil-Ecuador. 2019. págs. 20-23. [Consulta: 2023-07-23]. Disponible en: <http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/proximos/cag04.pdf>
37. **VERA, Aracely; et al.** Microorganismos endófitos asociados a *Theobroma cacao* como agentes de control biológico de *Moniliophthora roreri*. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de Guayaquil. Guayaquil-Ecuador. 2018. págs. 1-83
38. **VITAE, E.** “Control biológico de los moluscos intermediarios de los esquistosomas: el ejemplo de la región del caribe”. *Revista ciencias*, vol.7, n°2 (2007). págs.1-65.
39. **VILLAMIL, J.; et al.** “Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. Bajo Condiciones de Campo”. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* [en línea], 2015, vol. 68(1), pág. 5. [Consulta: 20 agosto 2023] 5471-7450. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179933010005.pdf>
40. **WANG, D.; et al.** “La oligotrofia es útil para el aislamiento de Actinomicetos bioactivos”. *Asociación de microbiología de India*, vol.4, n°2 (2014), pág. 4.

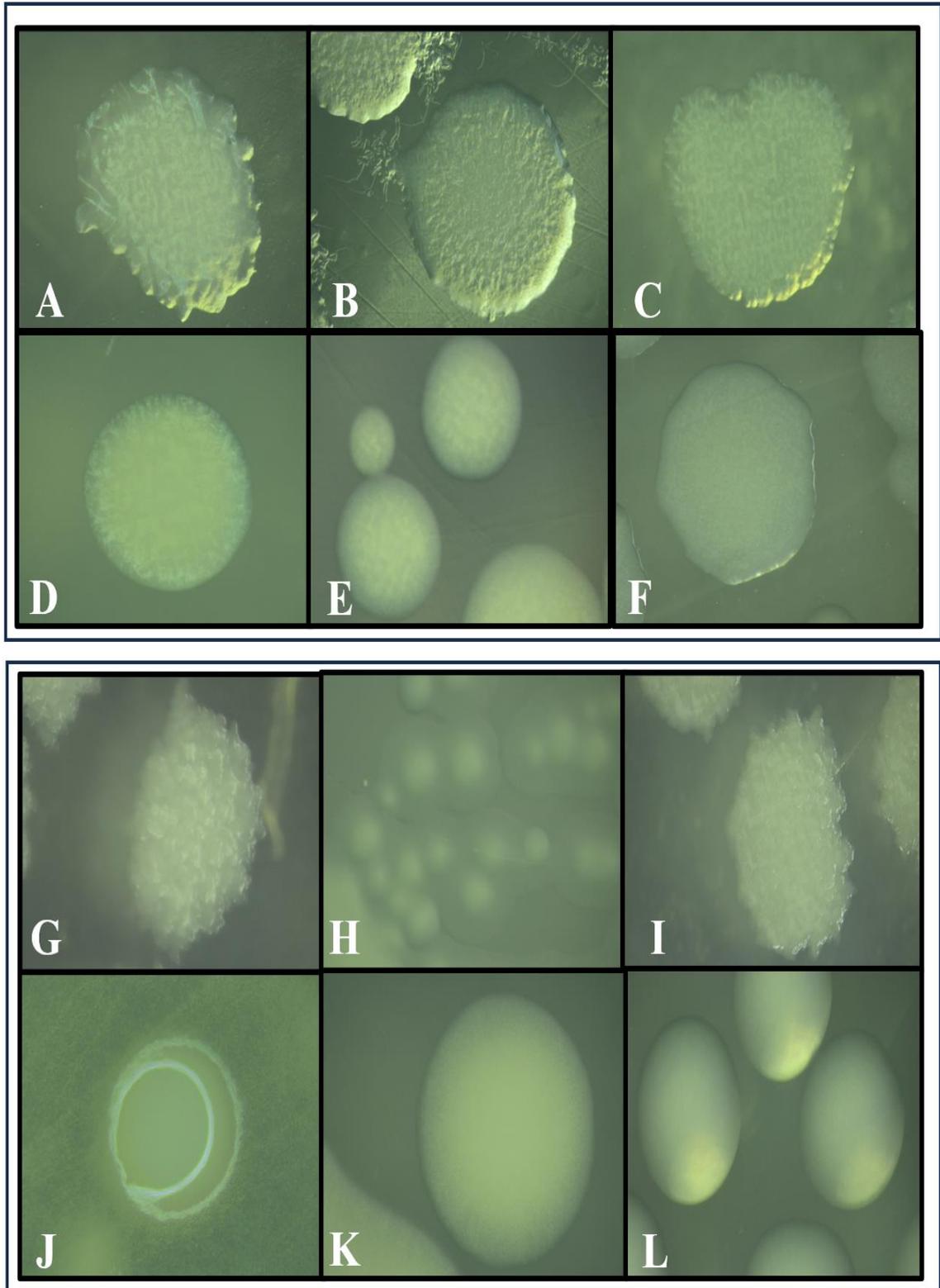


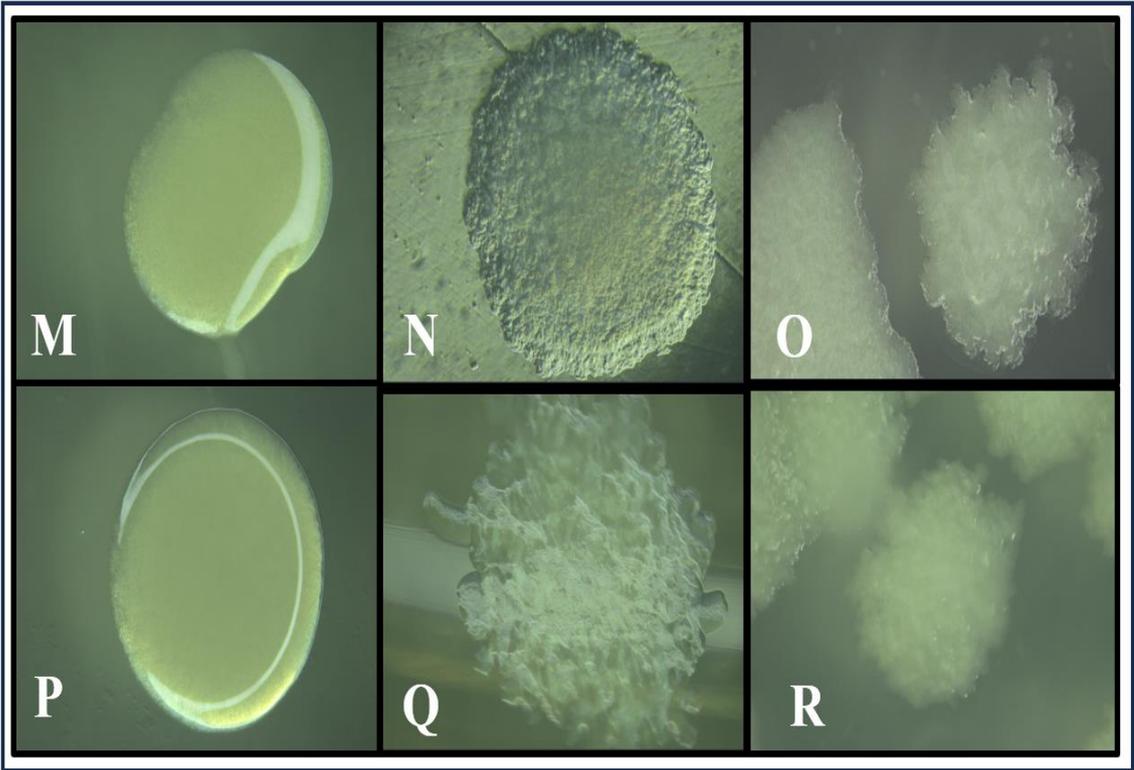
ANEXOS

ANEXO A: PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO



ANEXO B: CARACTERIZACIÓN DE LAS BACTERIAS





ANEXO C: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR CON LA APLICACIÓN NCBI-BLASTN

Job Title	24_50
RID	PHXYM841016 <small>Search expires on 12-02 04:00 am</small> Download All ▼
Program	BLASTN ? Citation ▼
Database	nt See details ▼
Query ID	lcl Query_25963
Description	24_50
Molecule type	dna
Query Length	923
Other reports	Distance tree of results MSA viewer ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions	Graphic Summary	Alignments	Taxonomy
---------------------	-----------------	------------	----------

Sequences producing significant alignments

Download ▼ Select columns ▼ Show 100 ▼ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain BCHA20 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cereus	544	544	71%	2e-149	82.30%	1447	MT533450.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. hb40 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. hb40	538	538	71%	1e-147	82.41%	1455	KF863839.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: firmicutes) strain QX13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: firmicutes)	536	536	71%	4e-147	82.38%	628	OQ719725.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain XC27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: firmicutes)	536	536	71%	4e-147	82.38%	628	OP456469.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. M71_D75 partial 16S rRNA gene, isolate M71_D75	Bacillus sp. M71_D75	536	536	71%	4e-147	82.38%	1475	FM992808.1
<input checked="" type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone W1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured bacterium	534	534	71%	1e-146	82.38%	1500	KY995549.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain BRL02-31 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cereus	534	534	71%	1e-146	82.38%	779	KX881447.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain FM1, complete genome	Bacillus cereus	534	7387	71%	1e-146	82.41%	5295158	CP009369.1

Job Title	25_50
RID	PHYMCZA013 <small>Search expires on 12-02 04:11 am</small> Download All ▼
Program	BLASTN ? Citation ▼
Database	nt See details ▼
Query ID	lcl Query_4889
Description	25_50
Molecule type	dna
Query Length	409
Other reports	Distance tree of results MSA viewer ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions	Graphic Summary	Alignments	Taxonomy
---------------------	-----------------	------------	----------

Sequences producing significant alignments

Download ▼ Select columns ▼ Show 100 ▼ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain TR4icola 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	606	606	100%	1e-168	93.41%	430	KY610288.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain FORC_Q47, complete genome	Bacillus cer...	606	8395	100%	1e-168	93.41%	5365433	CP017060.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus pacificus strain WS1-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus paci...	601	601	100%	5e-167	93.17%	1383	MT605498.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain AP12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	601	601	100%	5e-167	93.17%	1465	MT598023.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus pacificus strain 1697 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus paci...	601	601	100%	5e-167	93.17%	1453	MT597569.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain HBUM206313 16S ribosomal RNA gene, partial sequ...	Bacillus sp....	601	601	100%	5e-167	93.17%	1099	MT549689.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain FDAARGOS_796 chromosome, complete genome	Bacillus thur...	601	8329	100%	5e-167	93.17%	5415637	CP053972.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain TY-16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	601	601	100%	5e-167	93.17%	1378	MT505719.1

Job Title **26_50**

RID [PHYWFMZY013](#) Search expires on 12-02 04:15 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID Icl|Query_41999

Description 26_50

Molecule type dna

Query Length 989

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter anemicus strain ILSFMG674 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter...	1445	1445	96%	0.0	93.94%	1387	MN082114.1
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter xylosoxidans strain PF89X 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter...	1439	1439	96%	0.0	93.83%	1391	MK575014.1
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter xylosoxidans strain Z-B-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter...	1439	1439	96%	0.0	93.83%	1402	MW133035.1
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter sp. strain LX018AA 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter sp.	1435	1435	96%	0.0	93.73%	1384	MN830063.1
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter xylosoxidans strain PF93X 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter...	1434	1434	96%	0.0	93.73%	1395	MK575018.1
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter xylosoxidans strain S3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter...	1434	1434	96%	0.0	93.73%	1439	KU240050.1
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter xylosoxidans strain XAM32 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter...	1434	1434	96%	0.0	93.73%	1412	MZ853953.1
<input checked="" type="checkbox"/> Achromobacter sp. strain SR385 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Achromobacter sp.	1434	1434	96%	0.0	93.73%	1428	MZ026455.1

Job Title **27_50**

RID [PHYXE1B5013](#) Search expires on 12-02 04:16 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID Icl|Query_76655

Description 27_50

Molecule type dna

Query Length 1039

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain L22-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1351	1351	92%	0.0	91.94%	1415	OR533506.2
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain NBAIR B1135 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1351	1351	92%	0.0	91.94%	1394	OR053872.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus wiedmannii strain 117_11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus wie...	1351	1351	92%	0.0	91.94%	1399	OP811597.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain NBAIR_BS22 16S ribosomal RNA gene, partial sequ...	Bacillus sp....	1351	1351	92%	0.0	91.94%	1423	OP800126.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain Pal-28.15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1351	1351	92%	0.0	91.94%	1415	OK091673.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain MB5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1351	1351	90%	0.0	92.75%	1223	OP001383.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain SXFB8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1351	1351	92%	0.0	91.94%	1443	OM648228.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SB79 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1351	1351	92%	0.0	91.94%	1428	OL679704.1

Job Title **28_50**

RID [PHZ5R2CK016](#) Search expires on 12-02 04:20 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID IcllQuery_5431

Description 28_50

Molecule type dna

Query Length 1033

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain CCJZ008 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1175	1175	94%	0.0	88.38%	1067	KT897915.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus subtilis strain SDB6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sub...	1171	1171	94%	0.0	88.30%	1469	ON782575.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain CUMB TP-24 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1171	1171	94%	0.0	88.30%	1465	ON479459.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain GM1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1170	1170	94%	0.0	88.31%	1376	MK421529.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. SDIP2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1168	1168	94%	0.0	88.21%	1380	KU291424.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain GS02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1166	1166	94%	0.0	88.20%	1340	MN454860.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain NRKAR-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1166	1166	94%	0.0	88.21%	1376	MN602291.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain RL18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1166	1166	94%	0.0	88.20%	1427	MN234061.1

Job Title **29_50**

RID [PHZNTE58013](#) Search expires on 12-02 04:29 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID IcllQuery_2427

Description 29_50

Molecule type dna

Query Length 1045

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain abc38 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1637	1637	99%	0.0	95.19%	1507	KX405594.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain L22-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1635	1635	97%	0.0	95.69%	1415	OR533506.2
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain CUMB TP-24 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1635	1635	97%	0.0	95.69%	1465	ON479459.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain SXFB8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1635	1635	97%	0.0	95.69%	1443	OM648228.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SB79 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1635	1635	97%	0.0	95.69%	1428	OL679704.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus group sp. strain LB10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1635	1635	97%	0.0	95.69%	1434	KJ534410.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. C2L18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1635	1635	97%	0.0	95.69%	1092	DQ073461.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain N2-3-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1631	1631	98%	0.0	95.17%	1200	MN696501.1

Job Title **30_50**

RID [PHZV0438013](#) Search expires on 12-02 04:32 am [Download All](#) ▼

Program BLASTN [?](#) [Citation](#) ▼

Database nt [See details](#) ▼

Query ID lcl|Query_67147

Description 30_50

Molecule type dna

Query Length 639

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions | [Graphic Summary](#) | [Alignments](#) | [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▼ [Select columns](#) ▼ Show [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain VAIALRB-17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	732	732	99%	0.0	87.72%	1425	MK875182.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain MLU-UBKV-PP3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	732	732	99%	0.0	87.72%	791	OQ740275.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: CSBR/LTF11...	Bacillus cer...	732	732	99%	0.0	87.72%	1315	LC042234.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain CUMB TP-10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	732	732	99%	0.0	87.74%	1422	OK605552.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain KnSB6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	732	732	99%	0.0	87.72%	1415	KF381351.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone b11_37 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured b...	732	732	99%	0.0	87.72%	1474	JN236256.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus anthracis strain MCCC 1A01412 chromosome, complete genome	Bacillus ant...	730	10057	99%	0.0	87.60%	5291783	CP031643.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain FORCN068 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	730	730	99%	0.0	87.62%	1340	MW363270.1

Job Title **31_50**

RID [PJ02STSG016](#) Search expires on 12-02 04:36 am [Download All](#) ▼

Program BLASTN [?](#) [Citation](#) ▼

Database nt [See details](#) ▼

Query ID lcl|Query_59705

Description 31_50

Molecule type dna

Query Length 887

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions | [Graphic Summary](#) | [Alignments](#) | [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▼ [Select columns](#) ▼ Show [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. S621B-35 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	965	965	82%	0.0	91.23%	738	HQ238483.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain JUBR1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	963	963	81%	0.0	91.44%	1183	MH737743.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain 2_13b 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	963	963	81%	0.0	91.44%	1414	OP811770.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone nck212b05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured b...	963	963	81%	0.0	91.44%	1372	KF095676.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain MA 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	959	959	85%	0.0	90.25%	788	MG890254.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain YP-A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	959	959	81%	0.0	91.30%	1473	KU960911.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain BE4-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	959	959	81%	0.0	91.30%	1433	FJ696643.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain ML-02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	959	959	81%	0.0	91.30%	1525	KM083093.1

Job Title **32_50**

RID [PJ1V2CHU016](#) Search expires on 12-02 05:06 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID IcllQuery_63589

Description 32_50

Molecule type dna

Query Length 780

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain PR69 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	1426	MN232167.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain 1.1A12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	757	MK578207.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain LB081 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	827	KY622542.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain EG4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	1543	KY435707.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus paramycoides strain 211027-017_A21_20C5BAA000-31.ab1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus par...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	786	OR724999.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus tropicus strain 211027-017_M19_20C5BAA000-29.ab1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus trop...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	971	OR724997.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus cereus strain Y2-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cer...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	930	OR574213.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain NBAIR_BT_326 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1205	1205	93%	0.0	96.56%	1402	OR294223.1

Job Title **33_50**

RID [PJ1V9XPG013](#) Search expires on 12-02 05:06 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID IcllQuery_67667

Description 33_50

Molecule type dna

Query Length 177

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Sphingobacterium daejeonense strain R3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Sphingobac...	283	283	100%	8e-72	95.51%	851	KU991516.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Sphingobacterium daejeonense strain T2Z18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Sphingobac...	283	283	100%	8e-72	95.51%	1420	OQ472434.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Sphingobacterium daejeonense strain T2Z33 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Sphingobac...	283	283	100%	8e-72	95.51%	1413	OQ472426.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone TE3.103 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured b...	283	283	100%	8e-72	95.51%	489	JQ897182.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Sphingobacterium daejeonense strain SS3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Sphingobac...	278	278	100%	4e-70	94.94%	661	MT538315.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Sphingobacterium daejeonense strain NCTC13534 genome assembly, chromosome: 1	Sphingobac...	278	1112	100%	4e-70	94.94%	4732363	LR590470.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Sphingobacterium daejeonense strain S1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Sphingobac...	278	278	100%	4e-70	94.94%	1292	KP875426.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Sphingobacterium daejeonense strain DQ146 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Sphingobac...	278	278	100%	4e-70	94.94%	1325	KU147440.1

Job Title **55_50**

RID [PJ24U1GB013](#) Search expires on 12-02 05:11 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID IcllQuery_16725

Description 55_50

Molecule type dna

Query Length 639

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBL 6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	967	MK490808.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBL 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	972	MK490807.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBL 3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	970	MK490806.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBL 1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	959	MK490805.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBL 4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	972	MK480104.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBL 2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	961	MK480076.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBL 8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	961	MK480066.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SFBR 9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	593	593	94%	1e-164	84.69%	663	MK480065.1

Job Title **56_50**

RID [PJ25EM9P016](#) Search expires on 12-02 05:11 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID IcllQuery_29333

Description 56_50

Molecule type dna

Query Length 389

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium sp. strain EGI 63057 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	836	MK039029.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium sp. strain EGI 63041 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	849	MK039017.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium sp. strain LNSP7105-1.1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	1433	OR553799.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium conglomeratum strain C61 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	1380	OR122064.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium paraconglomeratum strain RCB915 16S ribosomal RNA gene, partial se...	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	1265	KT261127.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium sp. strain C.OS8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	1362	OK216098.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium sp. A2451GA 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	988	KP027816.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Brachybacterium sp. A272GS 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brachybacter...	496	496	100%	2e-135	89.72%	994	KP027802.1

Job Title **57_50**
 RID [PJ30V0YD016](#) Search expires on 12-02 05:26 am [Download All](#) ▼
 Program BLASTN [Citation](#) ▼
 Database nt [See details](#) ▼
 Query ID lcl|Query_59789
 Description 57_50
 Molecule type dna
 Query Length 504
 Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download ▼ Select columns ▼ Show 100 ▼ ?

select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus altitudinis strain HBUAS69032 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus altit...	821	821	98%	0.0	96.39%	1471	ON908863.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain MGSB-23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	821	821	98%	0.0	96.39%	1432	MT811945.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus subtilis strain BVC36 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subt...	821	821	98%	0.0	96.39%	950	JQ660619.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus pumilus strain U1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus pu...	819	819	98%	0.0	96.39%	1371	MK045773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus altitudinis strain KK4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus altit...	819	819	99%	0.0	96.21%	1512	KF975412.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone Bacillus pumilus cotton 16S ribosomal RNA gene, partial...	uncultured b...	817	817	98%	0.0	96.21%	1508	MG952570.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain 116E-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	817	817	99%	0.0	96.20%	1398	MK143293.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus altitudinis strain APB2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus altit...	817	817	99%	0.0	96.20%	1402	OP868577.1

Job Title **58_50**
 RID [PJ31D6M9013](#) Search expires on 12-02 05:26 am [Download All](#) ▼
 Program BLASTN [Citation](#) ▼
 Database nt [See details](#) ▼
 Query ID lcl|Query_81645
 Description 58_50
 Molecule type dna
 Query Length 1080
 Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download ▼ Select columns ▼ Show 100 ▼ ?

select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain BZ111 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1175	1175	72%	0.0	93.65%	827	MT453887.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain DCB27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1170	1170	74%	0.0	92.80%	849	MH921888.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. HKG197 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1168	1168	64%	0.0	96.72%	975	KF954718.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain FGE10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1166	1166	74%	0.0	92.81%	1452	OP070946.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis strain NAS1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thur...	1166	1166	74%	0.0	92.80%	1011	MW242782.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus sp. SDIP2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	1164	1164	74%	0.0	92.70%	1380	KU291424.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus thuringiensis partial 16S rRNA gene, isolate RC13	Bacillus thur...	1164	1164	64%	0.0	96.84%	700	AM269452.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Bacillus albus strain SSRSW16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus albus	1162	1162	74%	0.0	92.69%	1528	MN907680.1

Job Title **59_50**
 RID [PJ3PWK18013](#) Search expires on 12-02 05:38 am [Download All](#) 
 Program BLASTN  [Citation](#) 
 Database nt [See details](#) 
 Query ID lcl|Query_55607
 Description 59_50
 Molecule type dna
 Query Length 469
 Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) 

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#)  [Select columns](#)  Show 

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone nod2654c03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured b...	736	736	99%	0.0	95.09%	1373	JF231242.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone nod97e04c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured b...	736	736	99%	0.0	95.09%	1373	HM256927.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mammaliococcus sciuri strain Erto Ay3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Mammalico...	732	732	99%	0.0	94.88%	1405	MZ707502.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Staphylococcus sciuri strain CCMM_B1284 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Mammalico...	732	732	99%	0.0	94.87%	1507	MW303485.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mammaliococcus sciuri strain LH-T3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Mammalico...	730	730	99%	0.0	94.87%	1203	OR789354.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mammaliococcus sciuri strain PAL_32_27F_E01 ab1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Mammalico...	730	730	99%	0.0	94.87%	734	OR742165.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mammaliococcus sciuri strain M38_27F_A02 ab1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Mammalico...	730	730	99%	0.0	94.87%	874	OR742119.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mammaliococcus sciuri strain FKDN2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Mammalico...	730	730	99%	0.0	94.87%	1501	OR672825.1

Job Title **60_50**
 RID [PJ3RS5D6013](#) Search expires on 12-02 05:38 am [Download All](#) 
 Program BLASTN  [Citation](#) 
 Database nt [See details](#) 
 Query ID lcl|Query_90197
 Description 60_50
 Molecule type dna
 Query Length 652
 Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) 

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#)  [Select columns](#)  Show 

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Stenotrophomonas maltophilia partial 16S rRNA gene, strain Sabo 1.3	Stenotropho...	1129	1129	100%	0.0	98.01%	1504	LK871646.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Stenotrophomonas sp. strain CC86 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	1127	1127	100%	0.0	98.01%	1027	MN955580.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Stenotrophomonas sp. strain CC23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	1127	1127	100%	0.0	98.01%	1027	MN955569.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Stenotrophomonas sp. strain PI-27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	1127	1127	100%	0.0	98.01%	1416	MK165129.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Stenotrophomonas maltophilia strain 20.RO.5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	1127	1127	100%	0.0	98.01%	1388	MG776356.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Stenotrophomonas maltophilia strain ST2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	1127	1127	100%	0.0	98.01%	811	MG742202.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Stenotrophomonas sp. strain YJ-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	1127	1127	100%	0.0	98.01%	1420	KX863515.1
<input checked="" type="checkbox"/>	[Pseudomonas] hibiscicola strain PMS16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	[Pseudomo...	1127	1127	100%	0.0	98.01%	1425	KX527628.1

Job Title	61_50
RID	PJ4E4GDT016 Search expires on 12-02 05:50 am Download All ▼
Program	BLASTN ? Citation ▼
Database	nt See details ▼
Query ID	lcl Query_76713
Description	61_50
Molecule type	dna
Query Length	209
Other reports	Distance tree of results MSA viewer ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

- Descriptions
- Graphic Summary
- Alignments
- Taxonomy

Download ▼ Select columns ▼ Show 100 ▼ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Ochrobactrum sp. strain BDR2-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Ochrobactru...	353	353	100%	8e-93	97.13%	1393	MT036108.1
<input checked="" type="checkbox"/> Brucella pseudogrignoneis strain IILSFPR554 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brucella pse...	353	353	100%	8e-93	97.13%	1342	MN082123.1
<input checked="" type="checkbox"/> Brucella pseudogrignoneis strain IILSFSP440 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brucella pse...	353	353	100%	8e-93	97.13%	1339	MN082086.1
<input checked="" type="checkbox"/> Ochrobactrum sp. strain IILSFSC133 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Ochrobactru...	353	353	100%	8e-93	97.13%	1342	MN082063.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacterium strain BS2012 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	353	353	100%	8e-93	97.13%	1379	MK825200.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacterium strain BS2009 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium	353	353	100%	8e-93	97.13%	1382	MK825197.1
<input checked="" type="checkbox"/> Brucella pseudogrignoneis strain IAE45 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brucella pse...	353	353	100%	8e-93	97.13%	1353	MK414990.1
<input checked="" type="checkbox"/> Brucella pseudogrignoneis strain 1 2 21E 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Brucella pse...	353	353	100%	8e-93	97.13%	833	MG381713.1

Job Title	62_50
RID	PJ4EU6DM016 Search expires on 12-02 05:51 am Download All ▼
Program	BLASTN ? Citation ▼
Database	nt See details ▼
Query ID	lcl Query_90655
Description	62_50
Molecule type	dna
Query Length	714
Other reports	Distance tree of results MSA viewer ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

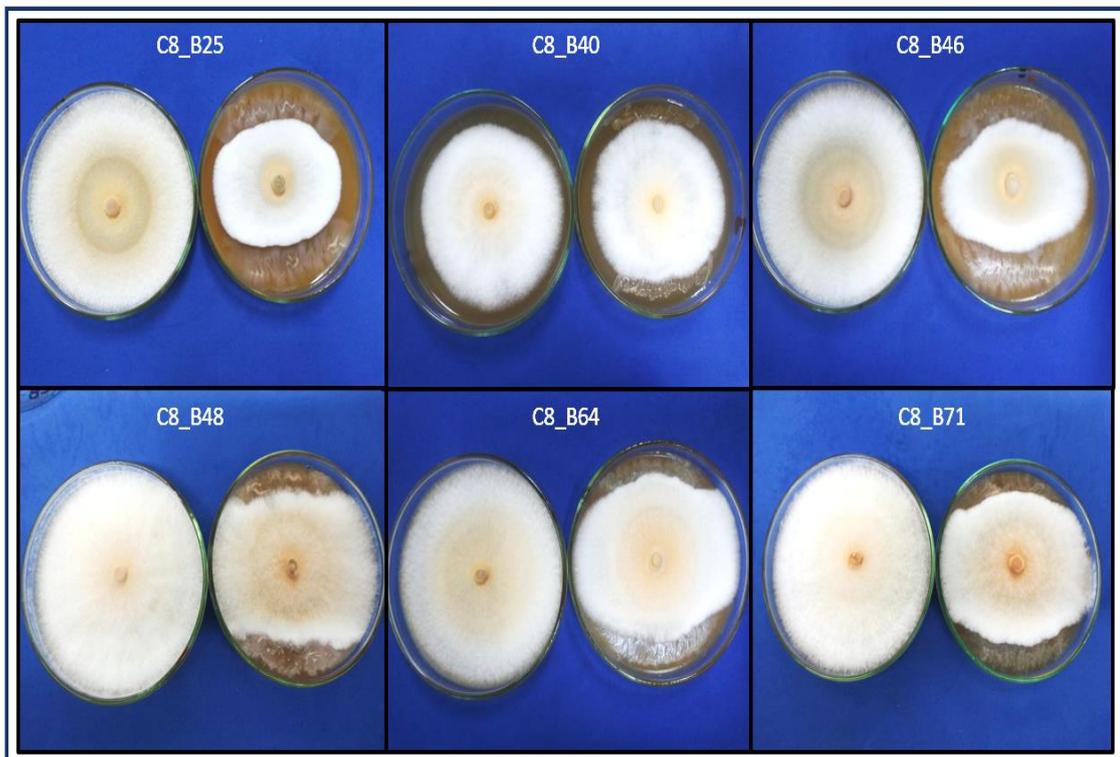
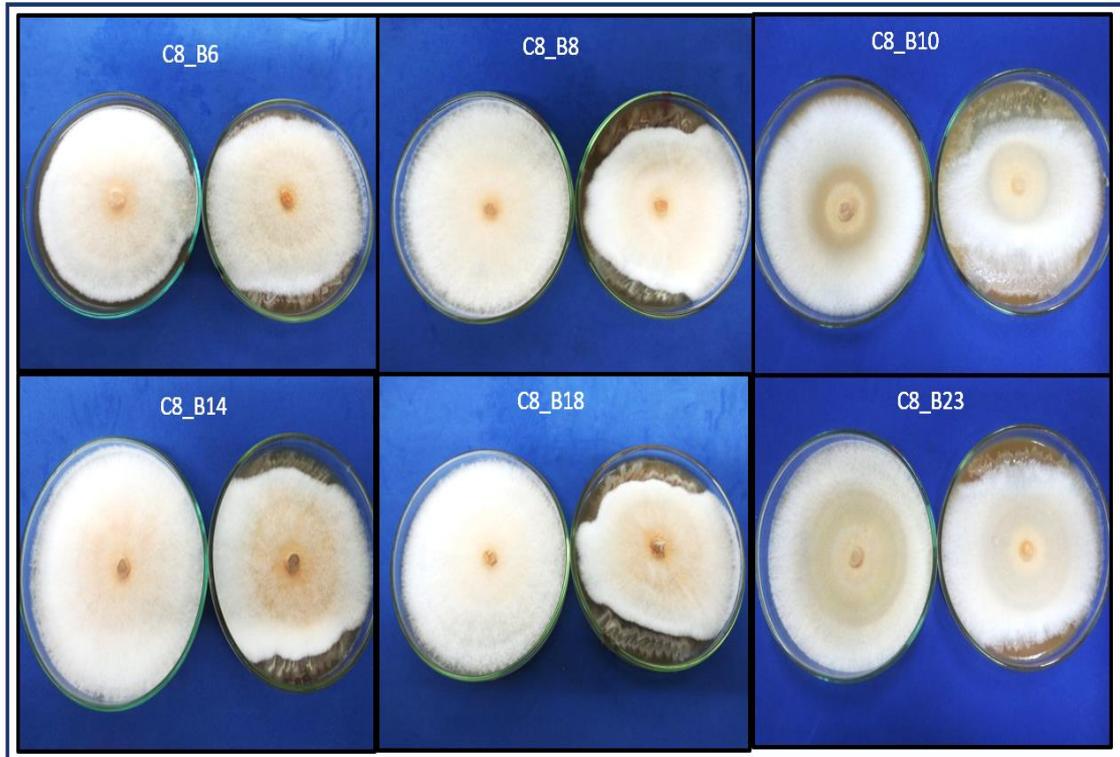
- Descriptions
- Graphic Summary
- Alignments
- Taxonomy

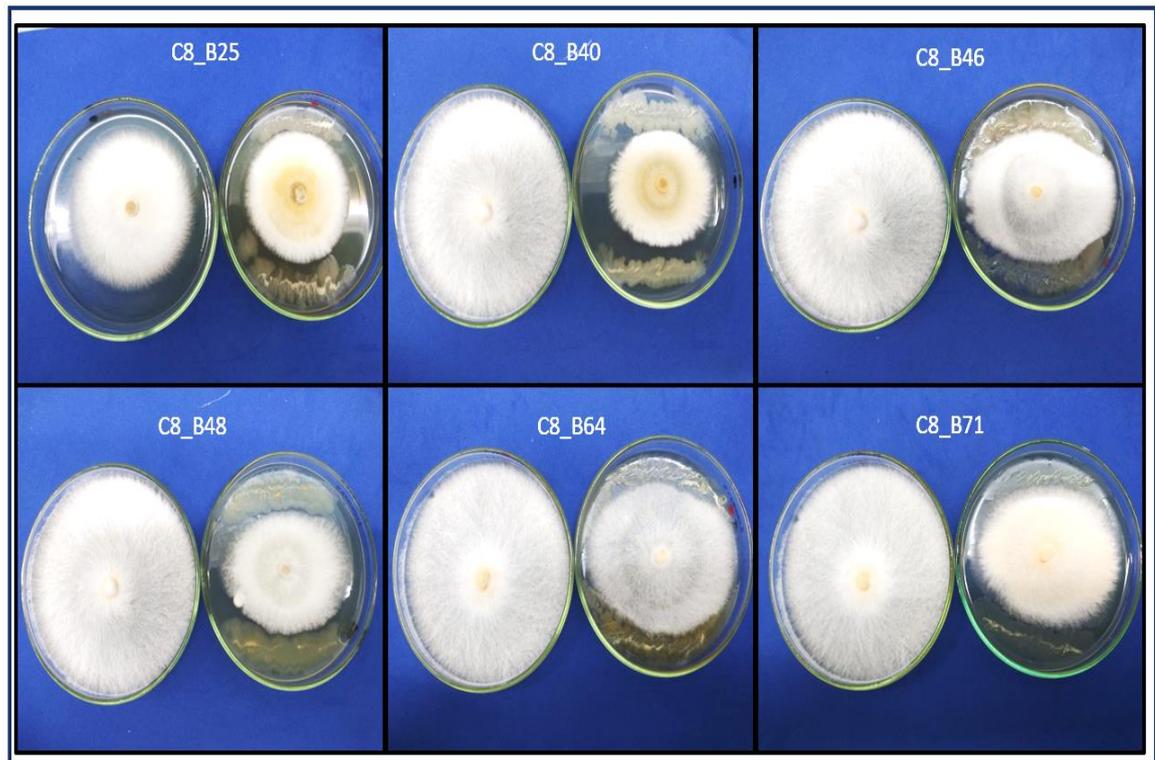
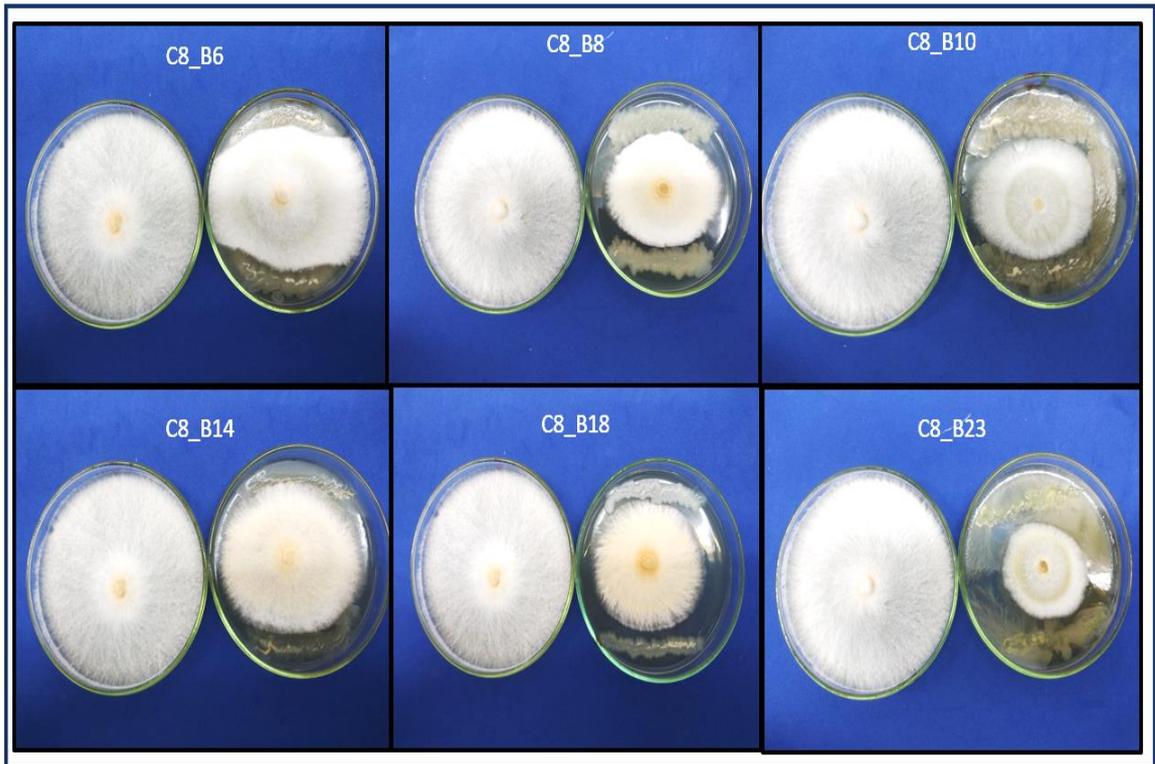
Download ▼ Select columns ▼ Show 100 ▼ [?](#)

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

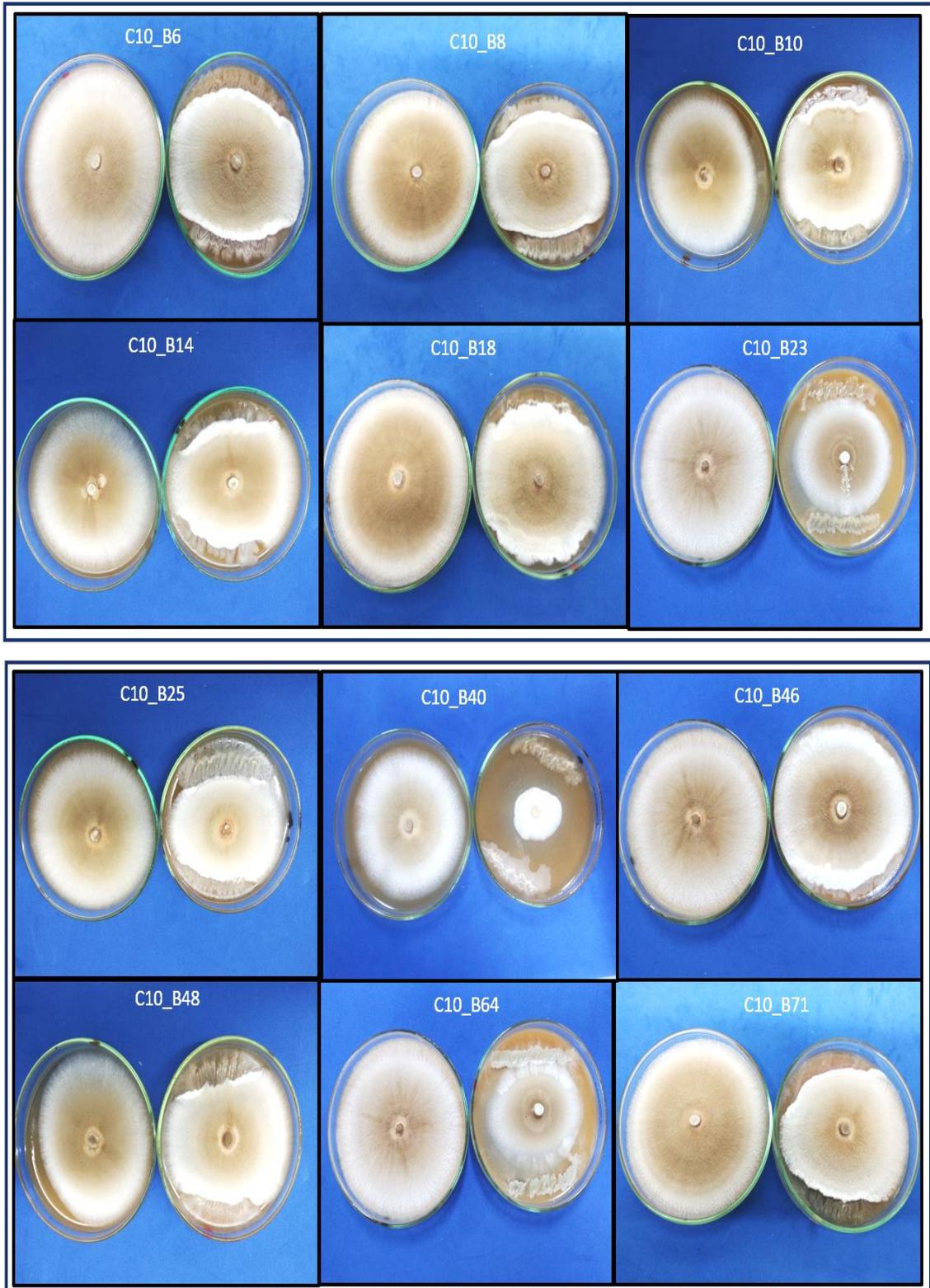
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone P5D4-484 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured b...	987	987	97%	0.0	92.64%	1420	EF511253.1
<input checked="" type="checkbox"/> Stenotrophomonas sp. strain CC86 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	985	985	97%	0.0	92.64%	1027	MN955580.1
<input checked="" type="checkbox"/> Stenotrophomonas sp. strain CC23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	985	985	97%	0.0	92.64%	1027	MN955569.1
<input checked="" type="checkbox"/> Stenotrophomonas sp. strain PI-27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	985	985	97%	0.0	92.64%	1416	MK165129.1
<input checked="" type="checkbox"/> Stenotrophomonas maltophilia strain 20.RO.5 16S ribosomal RNA gene, partial sequ...	Stenotropho...	985	985	97%	0.0	92.64%	1388	MG776356.1
<input checked="" type="checkbox"/> Stenotrophomonas maltophilia strain ST2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	985	985	97%	0.0	92.64%	811	MG742202.1
<input checked="" type="checkbox"/> Stenotrophomonas sp. strain YJ-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Stenotropho...	985	985	97%	0.0	92.64%	1420	KX863515.1
<input checked="" type="checkbox"/> [Pseudomonas] hibiscicola strain PMS16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	[Pseudomo...	985	985	97%	0.0	92.64%	1425	KX527628.1

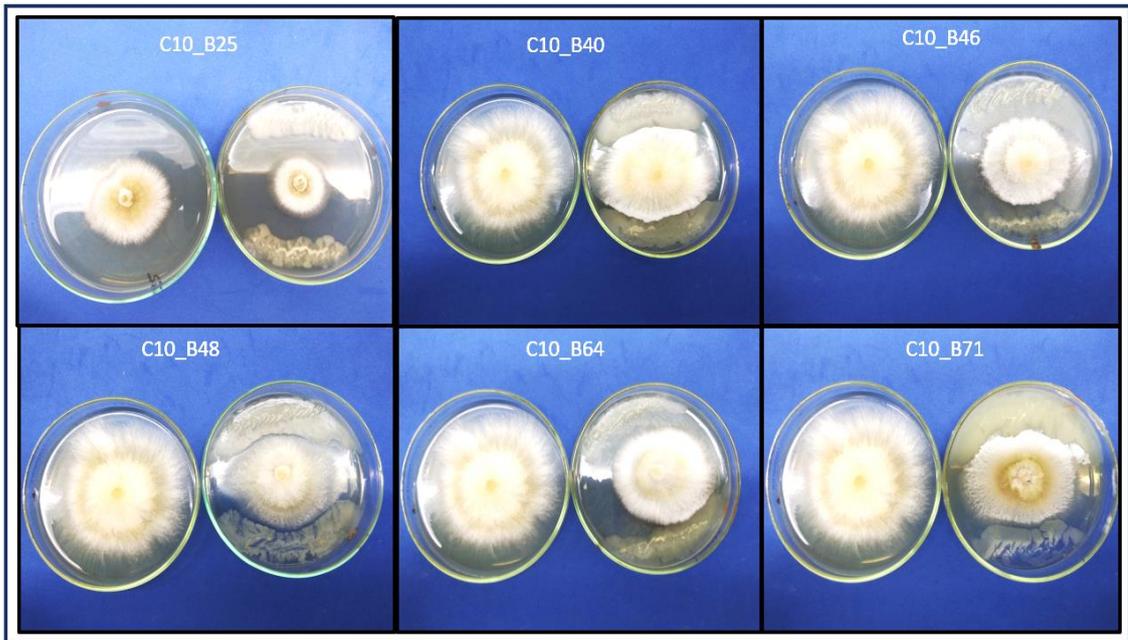
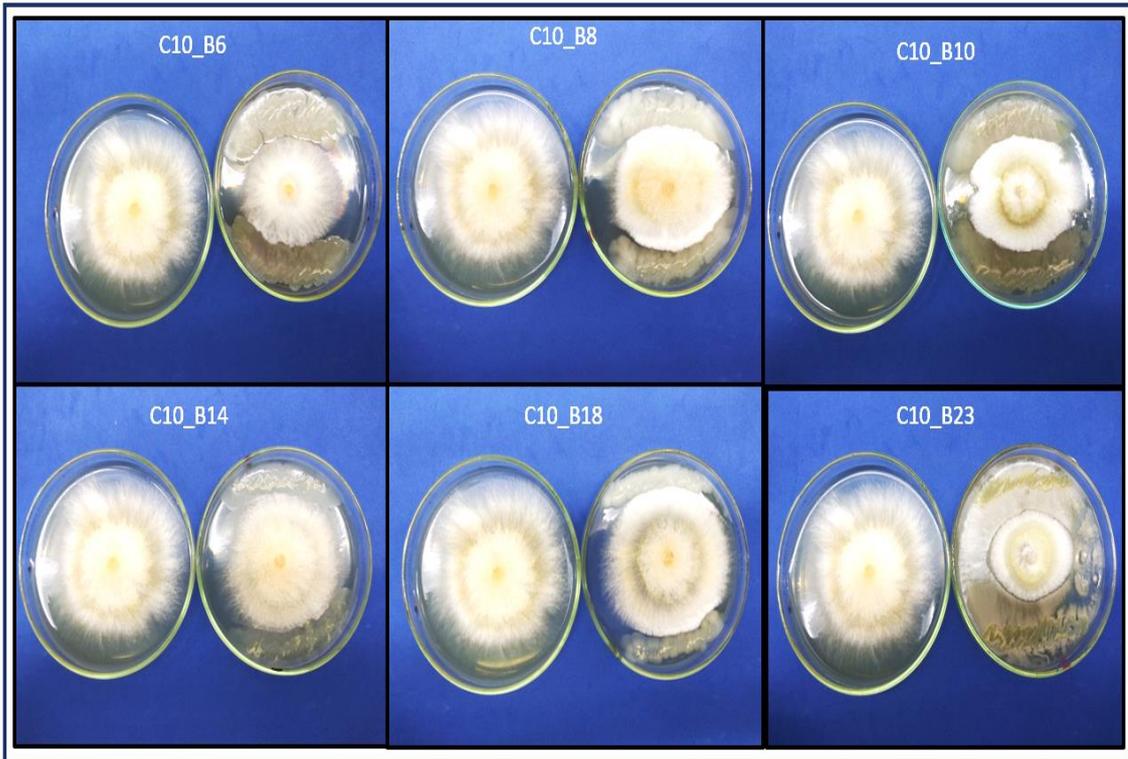
**ANEXO D: CRECIMIENTO DE LA CEPA C8 DE *Moniliophthora roreri* VS BACTERIAS
EN MEDIO V8 MODIFICADO Y MEDIO KADO 523**

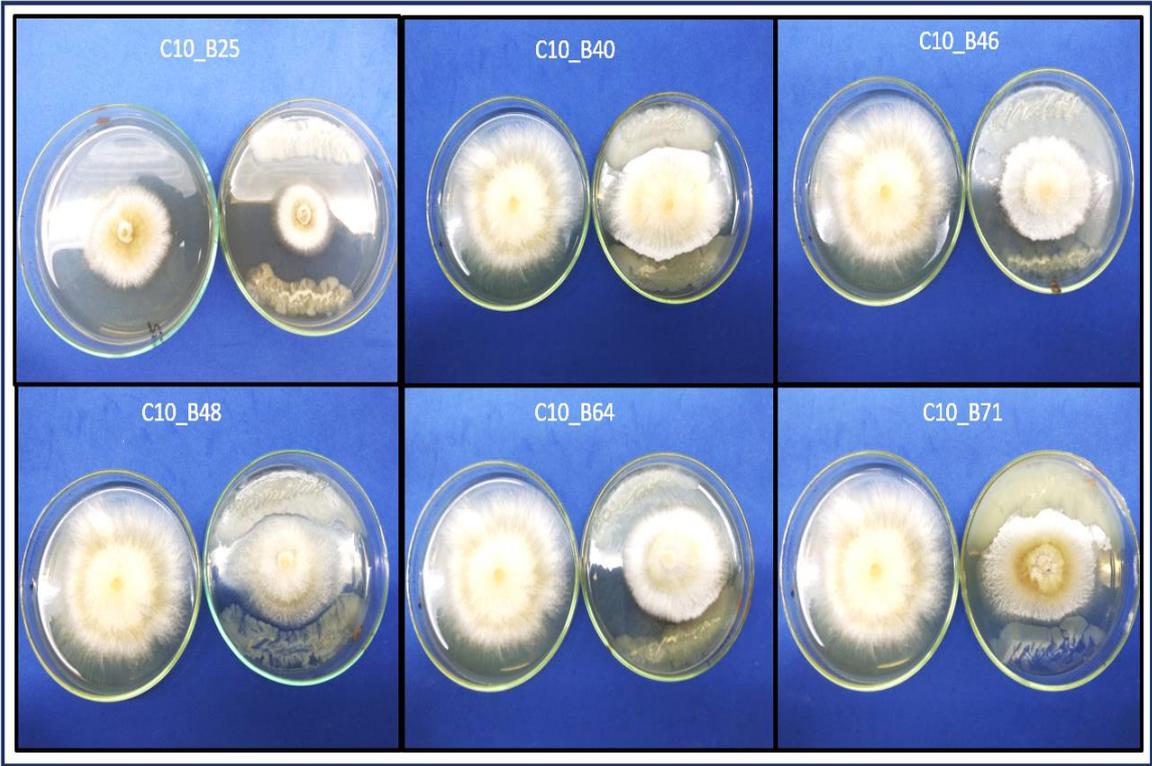




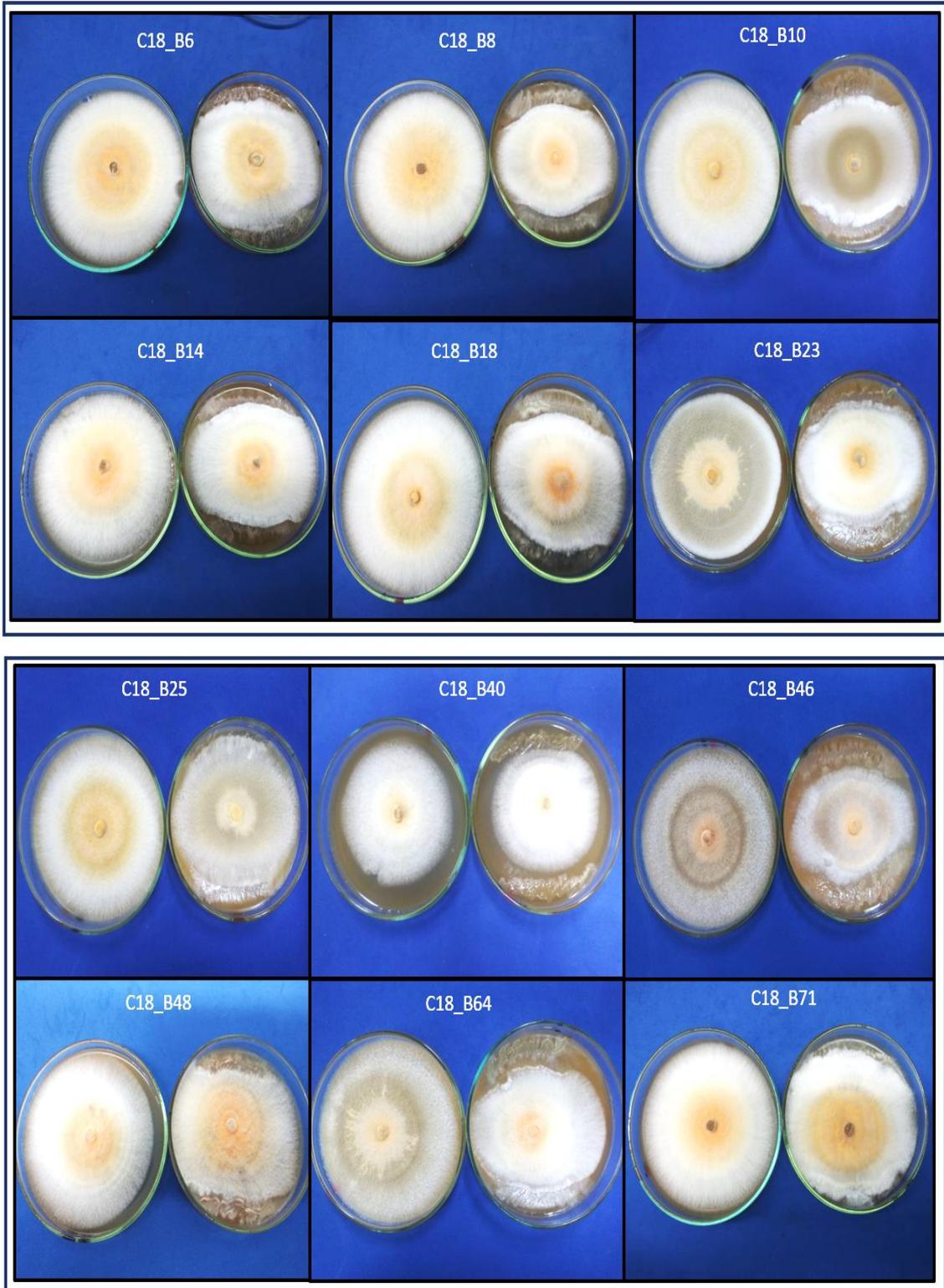
**ANEXO E: CRECIMIENTO DE LA CEPA C10 DE *Moniliophthora roreri* VS BACTERIAS
EN MEDIO V8 MODIFICADO Y MEDIO KADO 523**

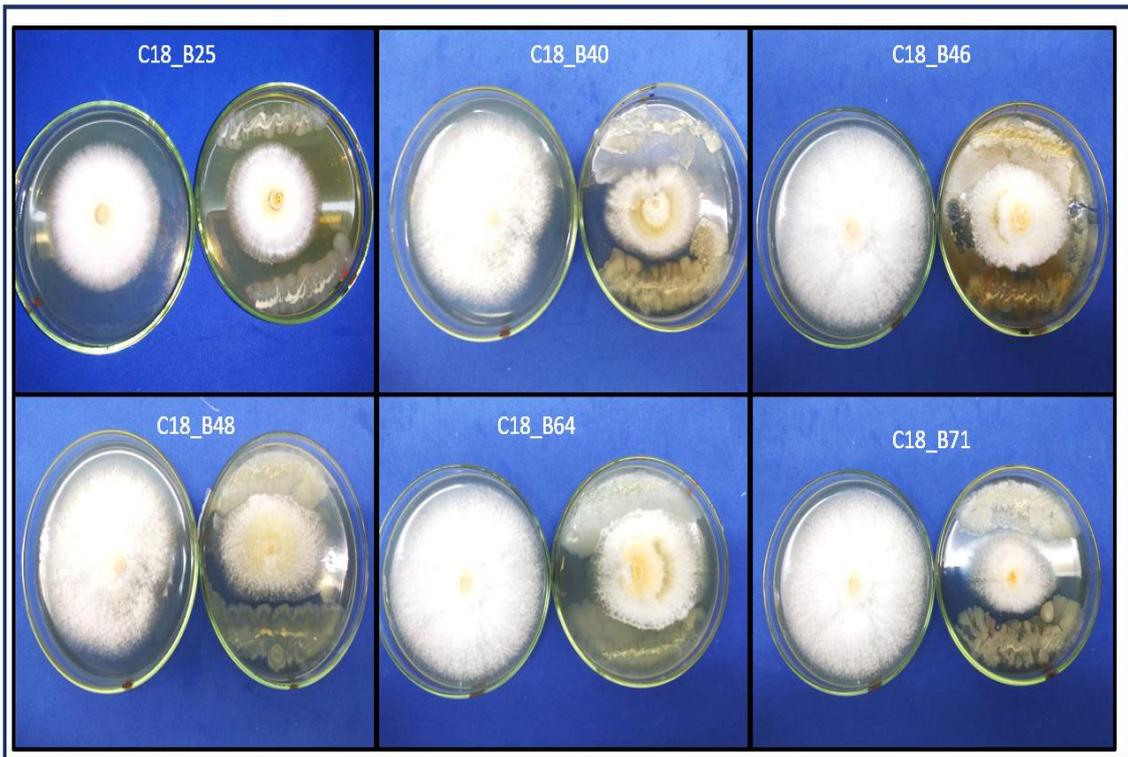
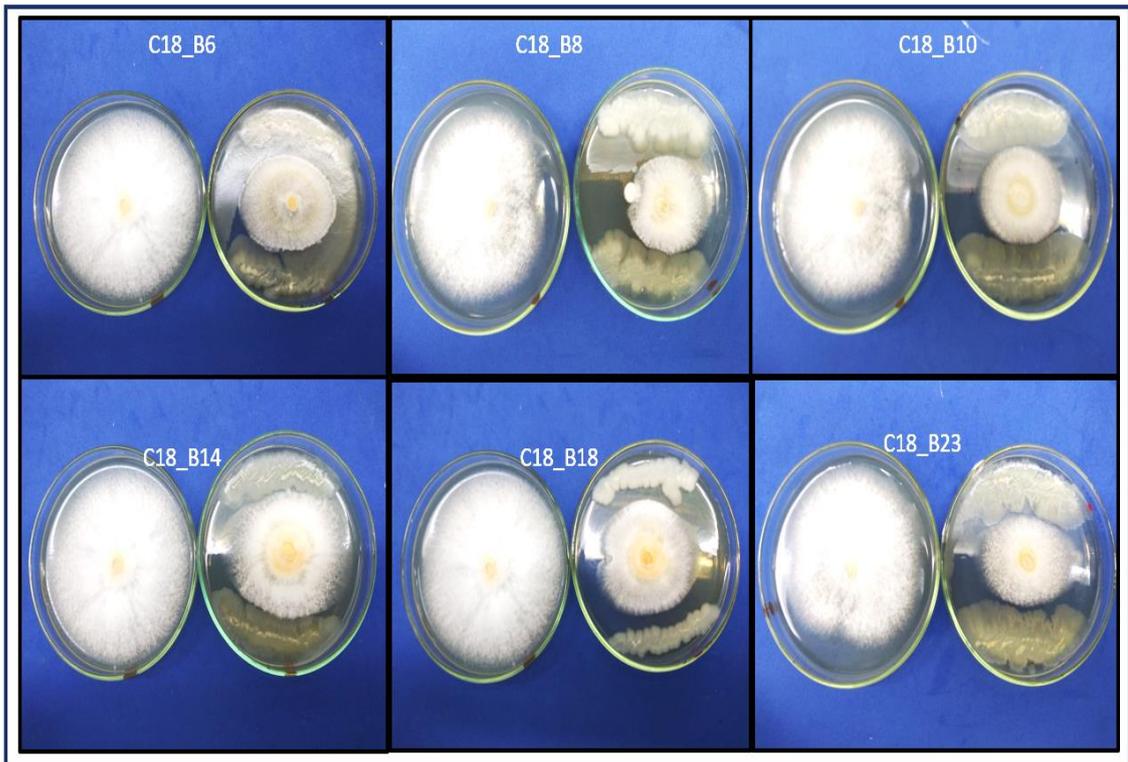




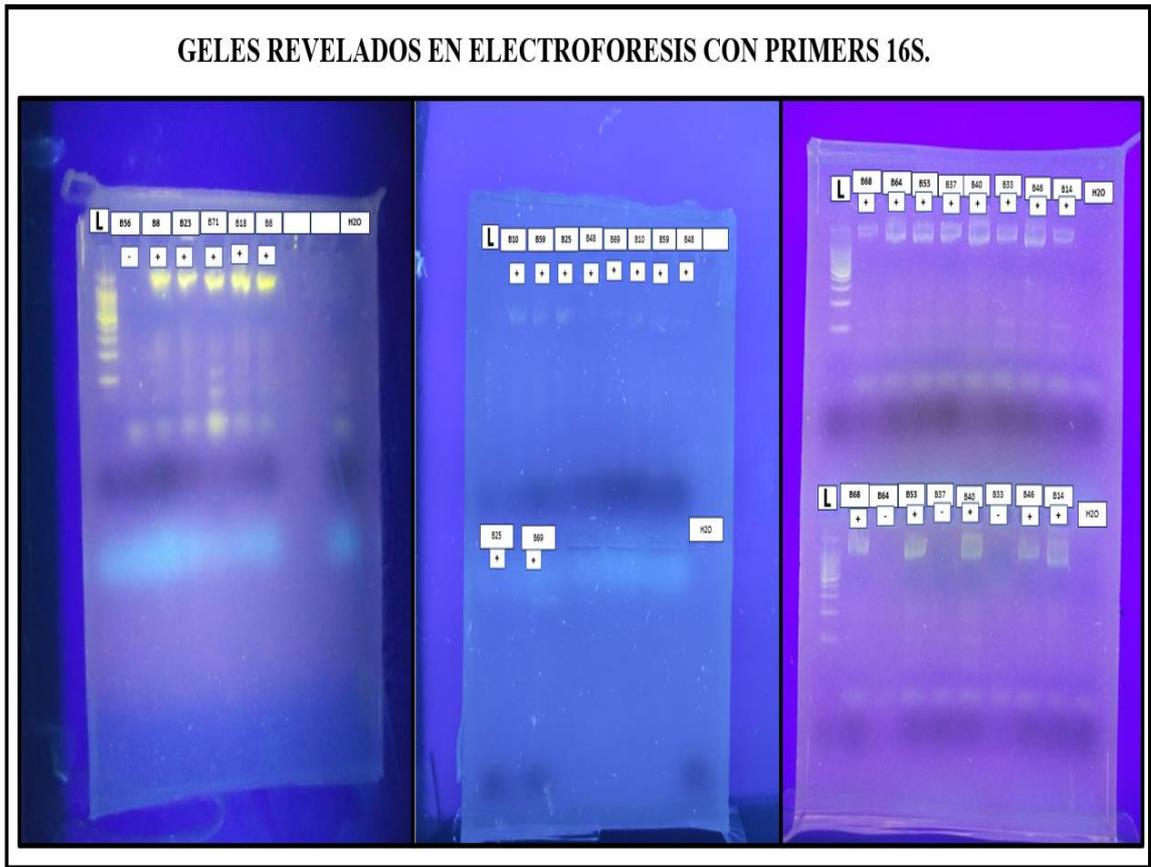


ANEXO F: CRECIMIENTO DE LA CEPA C18 DE *Moniliophthora roreri* VS BACTERIAS EN MEDIO V8 MODIFICADO Y MEDIO KADO 523





ANEXO G: GELES REVELADOS EN ELECTROFORESIS CON PRIMERS 16S



ANEXO H: PRUEBA DE TUKEY AL 5% DE LA INTERACCIÓN FACTOR A POR EL FACTOR B

Cepa	Bacteria	Media	Grupos
C10	B40	35,84	a
C10	B25	34,21	a b
C10	B23	32,29	a b c
C10	B6	28,98	a b c d
C18	B40	28,79	a b c d
C18	B25	27,53	a b c d
C8	B40	27,35	a b c d
C18	B8	27,2	a b c d
C10	B10	26,65	a b c d e
C18	B10	25,76	a b c d e
C8	B23	25,58	a b c d e
C18	B46	25,04	a b c d e
C18	B23	24,21	a b c d e
C8	B8	24,1	a b c d e
C18	B48	22,29	a b c d e
C10	B48	22,1	a b c d e
C10	B14	21,96	a b c d e
C18	B6	21,86	a b c d e
C18	B71	21,78	a b c d e
C10	B71	21,5	a b c d e
C10	B64	21,18	a b c d e
C8	B10	21,16	a b c d e
C10	B46	20,66	a b c d e
C18	B14	19,99	a b c d e
C10	B8	19,75	a b c d e
C8	B25	19,1	a b c d e
C8	B48	18,63	a b c d e
C8	B14	18,13	a b c d e
C8	B18	16,77	b c d e
C18	B64	16,52	b c d e
C18	B18	15,43	c d e
C10	B18	14,33	c d e
C8	B71	13,98	d e
C8	B6	12,1	d e
C8	B46	11,86	d e
C8	B64	8,74	e

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

ANEXO I: PRUEBA DE TUKEY AL 5% DE LA INTERACCIÓN FACTOR B POR EL FACTOR C

Bacteria	Medio	Media	Grupos
B23	KADO	42.53	a
B25	KADO	42.37	a
B10	KADO	36.33	a b
B8	KADO	32.58	a b c
B40	KADO	30.87	a b c d
B40	V8	30.45	a b c d
B48	KADO	27.52	b c d e
B71	KADO	25.21	b c d e f
B6	KADO	24.54	b c d e f gg
B46	KADO	23.16	b c d e f gg
B14	V8	21.41	c d e f gg
B64	KADO	19.73	c d e f gg
B18	KADO	19.01	c d e f gg
B14	KADO	18.64	c d e f gg
B6	V8	17.42	d e f gg
B46	V8	15.21	e f gg
B8	V8	14.78	e f gg
B48	V8	14.5	f gg
B71	V8	12.95	f gg
B10	V8	12.71	f gg
B23	V8	12.19	f gg
B18	V8	12.02	f gg
B25	V8	11.52	f gg
B64	V8	11.23	gg

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.

ANEXO J: PRUEBA DE TUKEY AL 5% DE LA INTERACCIÓN FACTOR A POR EL FACTOR B Y EL FACTOR C

Cepa	Bacteria	Medio	Media	Grupos
C10	B25	KADO	55,91	a
C10	B23	KADO	44,43	a b
C18	B25	KADO	43,86	a b
C18	B10	KADO	43,73	a b c
C10	B40	V8	43,22	a b c d
C18	B8	KADO	43,12	a b c d
C8	B23	KADO	42,59	a b c d e
C18	B23	KADO	40,56	a b c d e f
C10	B10	KADO	39	a b c d e f g
C18	B40	KADO	34,79	a b c d e f g h
C10	B6	KADO	32,54	a b c d e f g h
C18	B71	KADO	31,4	a b c d e f g h
C8	B8	KADO	30,68	a b c d e f g h
C10	B46	KADO	30,29	a b c d e f g h
C10	B71	KADO	30,13	a b c d e f g h
C8	B48	KADO	29,66	a b c d e f g h
C8	B40	KADO	29,36	a b c d e f g h
C18	B6	KADO	28,94	a b c d e f g h
C10	B64	KADO	28,57	a b c d e f g h
C10	B40	KADO	28,45	a b c d e f g h
C8	B25	KADO	27,35	b c d e f g h
C18	B48	KADO	26,82	b c d e f g h
C8	B10	KADO	26,26	b c d e f g h
C18	B46	KADO	26,24	b c d e f g h
C10	B48	KADO	26,07	b c d e f g h
C10	B6	V8	25,42	b c d e f g h
C8	B40	V8	25,33	b c d e f g h
C10	B8	KADO	23,94	b c d e f g h
C18	B46	V8	23,83	b c d e f g h
C18	B18	KADO	23,6	b c d e f g h
C8	B14	V8	23,51	b c d e f g h
C18	B40	V8	22,79	b c d e f g h
C10	B14	KADO	22,18	b c d e f g h
C10	B14	V8	21,74	b c d e f g h
C18	B14	KADO	21,01	b c d e f g h
C18	B64	KADO	20,42	b c d e f g h
C10	B23	V8	20,14	b c d e f g h
C18	B14	V8	18,98	b c d e f g h
C8	B18	KADO	18,47	b c d e f g h
C10	B48	V8	18,14	b c d e f g h
C18	B48	V8	17,76	b c d e f g h

C8	B8	V8	17,52	b	c	d	e	f	g	h
C8	B10	V8	16,06		c	d	e	f	g	h
C10	B8	V8	15,55			d	e	f	g	h
C8	B18	V8	15,07				e	f	g	h
C10	B18	KADO	14,94				e	f	g	h
C18	B6	V8	14,79					f	g	h
C10	B10	V8	14,3					f	g	h
C8	B71	KADO	14,09					f	g	h
C8	B71	V8	13,86					f	g	h
C10	B64	V8	13,78					f	g	h
C10	B18	V8	13,72					f	g	h
C8	B46	KADO	12,94					f	g	h
C10	B71	V8	12,86					f	g	h
C8	B14	KADO	12,75						g	h
C18	B64	V8	12,62						g	h
C10	B25	V8	12,5						g	h
C18	B71	V8	12,15						g	h
C8	B6	KADO	12,14						g	h
C8	B6	V8	12,06						g	h
C18	B8	V8	11,27							h
C18	B25	V8	11,2							h
C10	B46	V8	11,04							h
C8	B25	V8	10,86							h
C8	B46	V8	10,77							h
C8	B64	KADO	10,19							h
C8	B23	V8	8,57							h
C18	B23	V8	7,86							h
C18	B10	V8	7,78							h
C8	B48	V8	7,6							h
C8	B64	V8	7,29							h
C18	B18	V8	7,26							h

Realizado por: Tenesaca, Y., 2023.



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 17 / 01 / 2024

INFORMACIÓN DE LA AUTORA
Nombres – Apellidos: Yolanda Beatriz Tenesaca Chullca
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Recursos Naturales
Carrera: Agronomía
Título a optar: Ingeniera Agrónoma
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. CPA. Jhonatan Rodrigo Parreño Uquillas. MBA.

DIRECCION DE BIBLIOTECAS
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Y LA INVESTIGACION

Ing. Jhonatan Rodrigo Uquillas MBA
DBRA1 ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

2274-DBRA-UPT-2023