UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA

(Creada por Ley N° 25265)

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

TESIS

"DIVERSIDAD BACTERIANA DE LA RIZÓSFERA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) CULTIVADA EN SUELO FÉRTIL Y DEGRADADO"

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

SUELOS

PRESENTADO POR:

Bach. LEONOR NEDA CARBAJAL CUADROS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

HUANCAVELICA, PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA
(Creada por ley N° 25265)
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la Ciudad Universitaria "Común Era" a los 30 días del mes de abril del año 2019, a horas 2:30 pm, se reunieron; los miembros del Jurado Calificador, que está conformado de la siguiente manera:

PRESIDENTE : Ph. D. Agustín PERALES ANGOMA

SECRETARIO : M. Sc. Rolando PORTA CHUPURGO

VOCAL : Dr. Isaac Nolberto ALIAGA BARRERA

ACCESITARIO : Ing. Santiago Oscar PUENTE SEGURA

Designados con Resolución N° 371-2018-D-FCA-UNH; del proyecto de investigación TITULADO: **"DIVERSIDAD BACTERIANA DE LA RIZÓSFERA DE QUINUA *(Chenopodium quinoa* Willd) CULTIVADA EN SUELO FÉRTIL Y DEGRADADO"**

Cuyo autor es el bachiller:

Leonor Neda CARBAJAL CUADROS.

Asesorado por: Dr. Ruggerths Neil DE LA CRUZ MARCOS.

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del proyecto de tesis, antes citado.

Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente resultado.

APROBADO POR ☒ UNANIMIDAD

DASAPROBADO ☐

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.

M. Sc. Rolando PORTA CHUPURGO
Presidente

Dr. Isaac Nolberto ALIAGA BARRERA
Secretario

Ing. Santiago Oscar PUENTE SEGURA
Vocal

AUTOR

Bach. Leonor Neda CARBAJAL CUADROS

ASESOR:

Dr. Rugerths Neil DE LA CRUZ MARCOS

CO ASESOR

Dr. Gregorio José ARONE GASPAR

DEDICATÓRIA

- A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.
- A mi Madre Victoria Cuadros, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.
- A mis hermanos Maritza y Huberth por darme el ejemplo a seguir para ustedes hermanos con mucho cariño y amor.

AGRADECIMIENTO

- Primeramente, dar gracias a Dios por darme la vida y fortalecerme día a día para cumplir con mis metas que hasta ahora voy logrando.
- Expresar mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Huancavelica, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela profesional de Agronomía.
- Mi más profundo agradecimiento al Dr. Gregorio José ARONE GASPAR por sus sabias palabras y su acertada orientación para poder llevar a cabo el presente trabajo.
- Al Dr. Rugerths Neil DE LA CRUZ MARCOS por compartir sus valiosos conocimientos y por darme via libre para hacer la presente investigación para luego inculcarme como plasmarlo en el papel.
- Al personal de docentes de la Universidad Nacional de Huancavelica de la Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía, que con sus esmeros de cada día y sus experiencias supieron guiarme por el camino correcto hacia mi formación profesional.
- Agradecer al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA-Lima), programa presupuestal 089 Coordinadora Ing. Auristela Reynoso Zárate por brindarme la oportunidad de que sea posible el trabajo de investigación y que aporte a nuestra sociedad.
- Mi profundo agradecimiento a mi fiel amigo y compañero Rokmerd, gracias por su apoyo incondicional.
- A mis colegas Juan, Viane, Ruben, Maribel y Toño gracias por sus apoyos.
- A mi familia, mis padres Alejandro y Victoria por alentarme en todo momento para culminar esta hermosa carrera, a mis hermanos por ser mis mejores amigos y a cada uno de vosotros, mil gracias.

ÍNDICE

AUTOR iii
ASESOR: iv
DEDICATÓRIA v
AGRADECIMIENTO vi
ÍNDICE vii
ÍNDICE DE CUADROS x
ÍNDICE DE FIGURA xi
RESUMEN xiii
ABSTRAC xiv
INTRODUCCIÓN xv
CAPÍTULO I: 16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 16
1.1. Descripción del problema 16
1.2. Formulación del problema 16
1.3. Objetivos: general y específicos 17
1.3.1 Objetivo general 17
1.3.2 Objetivo especifico 17
1.4. Justificación 17
1.5. Limitacion 17
CAPITULO II 18
MARCO TEÓRICO 18
2.1. Antecedentes 18
2.2. Bases teóricas 20
2.2.1. La quinua 20
2.2.2. Suelo degradado 21
2.2.3. Suelo fértil 21
2.2.4. Comunidad microbiana del suelo 21
2.2.5. Importancia de los microorganismos del suelo 22
2.2.6. El rol de las bacterias en la agricultura 23
2.2.7. Suelo rizosferico 25
2.2.8. Diversidad bacteriana del suelo y sistemas de estudio. 25
2.2.9. Diversidad alfa 27
2.2.10. Diversidad beta 27
2.2.11. Diversidad gamma. 28
2.2.12. Método dependiente de cultivo celular 29

2.2.13. Método de siembra de colonias.....29
2.2.14. Medio de cultivo.....30
2.2.15. Medio de cultivo YEM (Extracto de YEast – Manitol).....30
2.2.16. Conservación de bacterias.....31
2.2.17. Las aplicaciones del análisis del rRNA 16s.....31
2.3. Bases conceptuales.....32
2.3.1. Microbiología.....32
2.3.2. El suelo y los microorganismos.....32
2.3.3. El papel de los microorganismos en las enfermedades.....33
2.3.4. Biorremediacion de suelos con micoorganismos.....33
2.4. Definición de términos.....34
2.5. Variables.....35
2.6. Operacionalización de variables.....36
CAPÍTULO III:.....37
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....37
3.1. Ambito temporal y espacial.....37
3.2. Tipo de investigación.....38
3.3. Nivel de investigación.....38
3.4. Población, muestra y muestreo.....38
3.4.1. Población.....38
3.4.2. Muestra.....38
3.4.3. Muestreo.....38
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....39
3.6. Técnicas y procesamiento de análisis de datos.....43
CAPITULO IV:.....44
RESULTADOS.....44
4.1. Análisis de información.....44
4.1.1. Propiedades fisicoquímicas de los suelos de alta fertilidad.....44
4.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los suelos degradados.....45
4.1.3. Resultado de análisis foliar de quinua crecidas en suelo fértil.....46
4.1.4. Resultado de análisis foliar de quinua crecidas en suelo degradado.....47
4.1.5. Diversidad bacteriana a nivel de género.....48
4.1.6. Diversidad bacteriana de suelo fértil rizosferico.....50
4.1.7. Diversidad bacteriana de suelo fértil no rizosferico.....52
4.1.8. Diversidad bacteriana de suelo degradado rizosferico.....54
4.1.9. Diversidad bacteriana de suelo degradado no rizosferico.....56

4.2. Discusión de resultados..... 58

4.2.1. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo rizosférico fértil.....58

4.2.2. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo no rizosférico fértil.....66

4.2.3. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo rizosférico degradado.....79

4.2.4. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo no rizosférico degradado.....94

CONCLUSIÓN.....108

RECOMENDACIONES 109

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 110

APÉNDICE.....121

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Definición operativa de variables e indicadores. 36
Tabla 2.Técnicas e instrumentos de recolección de datos..... 39
Tabla 3. Código de aislados. 43
Tabla 4. Resultado del análisis de suelos de alta fertilidad. 44
Tabla 5. Resultado del nálisis de muestras de suelo degradado. 46
Tabla 6. Resultado del análisis foliar de hojas de quinua de los suelos de alta fertilidad. 47
Tabla 7. Resultado del análisis foliar de hojas de quinua del suelo degradado. 48
Tabla 8. Diversidad bacteriana del suelo fértil rizosferico (SFR). 50
Tabla 9. Diversidad bacteriana del suelo fértil no rizosferico (SFNR). 52
Tabla 10. Diversidad bacteriana del suelo degradado rizosferico (SDR). 54
Tabla 11. Diversidad bacteriana del suelo degradado no rizosferico (SDNR). 56

ÍNDICE DE FIGURA

Ilustración 1. Muestreo de suelo rizosférico de plantas de quinua. 40
Ilustración 2. Toma de muestras de suelo rizosférico y no rizosférico de suelo fértil. 41
Ilustración 3. Código de muestras de suelo rizosférico y no rizosférico de suelos degradado y fértil. 42
Ilustración 4. Representación gráfica a nivel de género de los aislados..... 49
Ilustración 5. Bacillus atrophaeus. 60
Ilustración 6. Agrobacterium tumefaciens..... 61
Ilustración 7. Arthrobacter nitroguajacolicus. 61
Ilustración 8. Agrobacterium fabrum. 62
Ilustración 9. Enterobacter cloacae..... 63
Ilustración 10. Curtobacterium plantarum..... 64
Ilustración 11. Stenotrophomonas tumulicola 64
Ilustración 12. Paenibacillus peoriae. 65
Ilustración 13. Stenotrophomonas maltophilia..... 66
Ilustración 14. Arthrobacter nitroguajacolicus 67
Ilustración 15. Bacillus atrophaeus..... 67
Ilustración 16. Erwinia rhapontici. 68
Ilustración 17. Rahnella aquatilis. 69
Ilustración 18. Serratia grimesii. 70
Ilustración 19. Rhodococcus jialingiae. 70
Ilustración 20. Acinetobacter johnsonii. 71
Ilustración 21. Bacillus zhangzhouensis. 72
Ilustración 22. Plantibacter flavus. 72
Ilustración 23. Janibacter limosus. 73
Ilustración 24. Paenibacillus amylolyticus. 74
Ilustración 25. Paenibacillus chibensis. 74
Ilustración 26. Arthrobacter oxydans 75
Ilustración 27. Pseudomonas moraviensis. 76
Ilustración 28. Phyllobacterium ifriqiyense..... 76
Ilustración 29. Arthrobacter globiformis. 77
Ilustración 30. Pseudomonas kilonensis. 77
Ilustración 31. Bacillus altitudinis. 78
Ilustración 32. Variovorax boronicumulans 78
Ilustración 33. Enterobacter aerogenes. 79
Ilustración 34. Tsukamurella pseudospumae..... 80
Ilustración 35. Rhodococcus corynebacterioides. 82
Ilustración 36. Arthrobacter globiformis. 83
Ilustración 37. Arthrobacter nitroguajacolicus. 83

Ilustración 38. Streptomyces canus. 84
Ilustración 39. Curtobacterium flaccumfaciens 85
Ilustración 40. Ewingella americana 86
Ilustración 41. Pseudomonas putida. 87
Ilustración 42. Pseudomonas extremaustralis. 88
Ilustración 43. Plantibacter flavus 88
Ilustración 44. Pantoea agglomerans. 89
Ilustración 45. Staphylococcus succinus. 90
Ilustración 46. Bacillus siamensis 91
Ilustración 47. Pseudomonas putida. 92
Ilustración 48. Pseudomonas kilonensis. 92
Ilustración 49. Agrobacterium tumefaciens 93
Ilustración 50. Pseudomonas gessardii. 93
Ilustración 51. Arthrobacter nitroguajacolicus. 94
Ilustración 52. Streptomyces novaecaesareae. 95
Ilustración 53. Bacillus megaterium. 96
Ilustración 54. Cinetobacter johnsonii 97
Ilustración 55. Bacillus zhangzhouensis 98
Ilustración 56. Pseudomonas congelans. 99
Ilustración 57. Janibacter limosus. 99
Ilustración 58. Enterobacter aerogenes. 100
Ilustración 59. Rahnella aquatilis. 101
Ilustración 60. Staphylococcus saprophyticus 102
Ilustración 61. Stenotrophomonas maltophilia. 103
Ilustración 62. Pseudomonas baetica. 104
Ilustración 63. Pantoea agglomerans. 105

RESUMEN

De acuerdo al Ministerio de Agricultura y Riego, a nivel mundial, el Perú es el principal productor de quinua, y con el fin de contribuir a la sostenibilidad de su producción, con el proyecto se ha planteado aislar y caracterizar bacterias del suelo rizosférico (SR) y no rizosférico (SNR) de plantas de quinua de dos chacras: Una de alta fertilidad y otra degradada, localizadas en las coordenadas 12° 33´ 52" S y 74° 56´50" W, a 3562 msnm, en Huando, Huancavelica (Perú), donde se cultivaron quinua Var. Hualhuas durante la campaña agrícola 2016-2017. A partir de 10 g de suelo (peso húmedo) procedente del SR de 30 plantas de quinua al 50% de floración y de 30 muestras de SNR, de suelos fértil y degradado, y disueltos en solución salina al 0,85%, se sembraron en placas de Petri que contenían medio YEM y fueron incubadas a 28ºC por 72 horas, una vez crecidas se visualizó las unidades formadoras de colonias (UFCs) con diferente morfología, los que se seleccionaron mediante inspección con una lupa de aumento 10X,.Para la obtención del ADN de los aislados se utilizó el kit de extracción AxyPrep™ Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit, y una vez verificada su calidad y concentración fueron enviados para secuenciar el gen 16S rRNA a Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur). Recibida los cromatogramas y las secuencias de la empresa se procedieron con su procesamiento bioinformático utilizando Chromas 2.6.6 y MEGA X 10.0.5. Las secuencias limpias se compararon con las depositadas en GenBank mediante el programa BLASTN disponible en el National Center for Biotechnology Information (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov/). Muchas de ellas poseen actividad como Rizobacterias Promotoras de Crecimiento de Plantas (PGPR), las que se emplearán en futuros trabajos de investigación.

PALABRAS CLAVE: Diversidad bacteriana; 16S rRNA, Suelo degradado; Suelo fértil, Quinua

ABSTRAC

According to the Ministry of Agriculture and Irrigation, worldwide, Peru is the main producer of quinoa, and in order to contribute to the sustainability of its production, it has been proposed to isolate and characterize rhizospheric soil bacteria (SR) and not rhizospheric (SNR) of quinoa plants grown in two charas: One of high fertility and another degraded, located at the coordinates 12 ° 33' 52" S and 74° 56' 50" W, at 3562 masl, in Huando, Huancavelica (Peru), where quinoa Var. Hualhuas during the 2016-2017 agricultural campaign. From 10 g of soil (wet weight) from the SR of 30 plants of quinoa to 50% of flowering and of 30 samples of SNR, of both soils, and dissolved in 0.85% saline solution, they were seeded in plates of Petri that contained half YEM and were incubated at 28ºC for 72 hours, once grown, colony forming units (CFUs) with different morphology were visualized, which were selected by inspection with a 10X magnifying glass and each of them was It was reseeded in YEM medium until morphologically uniform colonies were obtained, achieving a total of 90 isolates in the 4 soils. The appearance of new CFUs was not observed after 72 h of incubation. To obtain the DNA of the isolates, the AxyPrep ™ Bacterial DNA Miniprep Kit was used, and once verified their quality and concentration were sent to sequence the 16S rRNA gene to Macrogen Inc. (Seoul, South Korea). Once the chromatograms and the company sequences were received, they proceeded with their bioinformatic processing using Chromas 2.6.6 and MEGA X 10.0.5. The clean sequences were compared with those deposited in GenBank through the BLASTN program available from the National Center for Biotechnology Information (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov/). Many of them have PGPR activity, which will be used in future work.

KEY WORDS: Bacterial diversity; 16S rRNA, degraded soil; Fertile soil, Quinoa

INTRODUCCIÓN

Quinua (Chenopodium quinoa Willd) es un cultivo andino domesticado hace miles de años por las antiguas culturas de la Región Andina. Existen evidencias de que fue alimento básico para las poblaciones pres hispánicos hasta la época de la conquista. El cambio de los hábitos alimenticios y la preferencia por alimentos nutritivos y orgánicos a nivel global promovieron el reconocimiento y la revaloración de la quinua, dando lugar al incremento de su producción. Su valor nutritivo radica en el balance ideal de los aminoácidos de su proteína que lo convierten en un componente ideal en las dietas.

La rizósfera es el volumen del suelo influenciado por la presencia de raíces de una planta viva, cuya extensión puede variar de acuerdo al tipo de suelo, la especie de planta, su edad y otros factores. Los inoculantes microbianos a base de bacterias PGPRs (Rizobacterias Promotoras de crecimiento vegetal) que son bacterias libres del suelo que directamente o indirectamente ayuda en el crecimiento y desarrollo vegetal y constituyen una alternativa eficaz al uso de fertilizantes nitrogenados.

En la naturaleza, la mayoría de los microorganismos no se encuentran aislados, sino integrados en poblaciones mixtas. Para llevar a cabo el estudio de estos microorganismos y de sus propiedades, es necesario separar unos de otros y trabajar con especies aisladas, obteniendo cultivos axénicos o puros. Un cultivo axénico o puro es aquel que contiene un sólo tipo de microorganismo y que procede generalmente de una sola célula; el crecimiento de ésta origina, en medio sólido, una masa de células fácilmente visible que recibe el nombre de unidad formadora de colonias (UFCs).

Dado el interés creciente en la reducción del uso de agroquímicos y también por la agricultura ecológica, las bacterias promotoras de crecimiento vegetal constituyen una alternativa al uso de fertilizantes y agroquimicos. Por tanto, la tarea de conservar, optimizar y restaurar los suelos, constituye uno de los principales desafíos en la actualidad, razón por el cual se planteó elaborar el Proyecto: **"DIVERSIDAD BACTERIANA DE LA RIZÓSFERA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) CULTIVADA EN SUELO FÉRTIL Y DEGRADADO"**.

CAPÍTULO I:
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.Descripción del problema

El creciente consumo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd*)* en el mercado nacional e internacional, debido a su valor nutritivo, viene induciendo a los productores ejercer una fuerte presión sobre los suelos frágiles de nuestra región. Asimismo, se han empezado a cultivar áreas que tradicionalmente estaban destinadas al pastoreo; igualmente, los tiempos de descanso de los suelos se han reducido, dando lugar a la compactación, falta de rotación, pérdida de fauna del suelo; procesos que contribuyen al empobrecimiento de los suelos. Para superar estos problemas los agricultores acceden a los agroquímicos. Sin embargo, su uso excesivo puede provocar serios daños a la atmósfera, salud, el agua que consumimos y alteran directamente la comunidad microbiana del suelo.

Los microorganismos están implicados en los ciclos del C, N, P y S, e intervienen en procesos claves como la formación de la estructura del suelo, descomposición de la materia orgánica, eliminación de toxinas y dotan estabilidad a los cultivos y a la sostenibilidad de la producción de las plantas mediante la actividad PGPR (Rizobacterias Promotoras de Crecimiento de Plantas), los que se hallan hospedadas en el suelo no rizosférico y rizosférico y, en el interior de las raíces de las plantas como endófitos. En este escenario, se aspira conocer, empleado el método dependiente, la diversidad bacteriana asociada a las raíces de las plantas de quinua.

1.2.Formulación del problema

En función a lo descrito se formuló el siguiente problema ¿Qué especies bacterianas se hallan hospedadas en la rizósfera de quinua (*Chenopodium Quinoa* Willd*)* cultivadas en suelos de alta fertilidad y degradados?

1.3. Objetivos: general y específicos

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar la diversidad bacteriana rizosférico y no rizosférico de quinua cultivadas en suelo fértil y degradado.

1.3.2 Objetivo especifico

- Aislar bacterias rizosféricas y no rizosféricas en plantas de quinua cultivadas en suelo fértil y degradado.
- Identificar las bacterias rizosféricas y no rizosféricas en plantas de quinua mediante el gen 16S rRNA.

1.4. Justificación

Científico: La presente investigación permitió además de identificar las bacterias de la rizósfera de la quinua, generar protocolos validados para estudios de diversidad de bacterias en otras especies de interés agropecuario.

Socioeconómico: En la región de Huancavelica, en los últimos años, los productores agrarios utilizan fertilizantes químicos para incrementar las cosechas, los que elevan los costos de producción por lo que el proyecto ayudó generar propuestas sostenibles a fin de lograr mejores ingresos por la venta de las cosechas y además reducir los gastos que ocasionan al agricultor por la compra de los fertilizantes sintéticos.

Ambiental: Al identificar la diversidad bacteriana, existen bacterias que pueden ser empleadas para reducir el uso de los fertilizantes sintéticos, con lo que se puede reducir la contaminación ambiental que genera los fertilizantes sintéticos.

1.5. Limitacion

- Temperatura
- pH
- Humedad
- Medio de cultivo
- Factor ambiental

CAPITULO II:
MARCO TEÓRICO

2.1.Antecedentes

Estudios realizados por (Sharma *et al.*, 2018) menciona que un total de 110 bacilos fueron aisladas de la rizosfera de garbanzos de suelos salinos de Uttar Pradesh, India. Todas las cepas fueron seleccionadas para tolerancia a la sal en concentraciones graduadas (0, 2, 4, 6, 8. 10 y 12%) de NaCl. Fuera de las 110 cepas, se encontró que 9 cepas para ser halotolerante con capacidad de sal (NaCl) la tolerancia de hasta 8 - 12%. Cinco (CV22, CM25, CM28, CM32 y CG13), dos (CG4 y CV9) y dos aislamientos (CG18 y CG21) fueron capaces de tolerar 12, 10 y 8% de NaCl, respectivamente. Promover in vitro cribado antagonista de estas cepas contra diferentes patógenos fúngicos de garbanzo (AA, CC, FOC, FS, MP, RS, RS y SS) reveló que estas cepas halotolerantes (CV9, CV22, CM25, CM28, CM32, CG4, CG13, CG18 y CG21) muestran efecto inhibidor positivo en el crecimiento del micelio (> 46,36%) de todos los patógenos fúngicos de plantas de prueba. Cepas bacterianas excepto CV22 mostraron una fuerte actividad antagonista contra todos los ocho AA hongos patógenos, CC, FOC, FS, MP, RS, SR y SS en su límite máximo tolerancia a la sal. En ensayo de cultivo dual, entre las nueve cepas, cepa CG18 mostró el porcentaje de inhibición micelial más alta contra todos los patógenos fúngicos de prueba seguido por la cepa CM 25.

Estudios realizados por (Zheng *et al*.,2018) menciona que se realizó la identificación y caracterización de bacterias de los campos agrícolas inorgánicas, se realizó la siembra de bacterias, extracción de ADN y secuenciación (Invitrogen, Shanghai, China). Las secuencias fueron alineadas con los de eages Lin bacterianas en Gen Bank en el Centro Nacional para la Información Biotechnología (NCBI) Con el programa BLAST. Las secuencias de 16S rRNA de todas las cepas fueron subidos a la Leer archivo de secuencias NCBI, al realizar el análisis del crecimiento

de cepas representativas IPSB seis microplacas de 96 pocillos (576 pocillos en total) con modio PVK se utilizaron para el cribado de las dos muestras de suelo para iPSBs. Se aislaron 39 y 35 cepas IPSB de los suelos Hailun y Yingtan, respectivamente, y dos cepas bacterianas de incertidumbre se obtuvieron del suelo Hailun. Las cepas de incertidumbre se transfirieron a placas de medio 200 mm PVK, donde sobrevivieron y produjeron cambios de color ligero y las zonas de despacho.

Estudios realizados por (Zhu Y. 2018) menciona que un total de 45 cepas bacterianas fueron aisladas de las raíces y hojas de A. bifolio. El análisis de la secuencia del gen 16S rDNA mostró que estas cepas pertenecen a 13 géneros diferentes con tres phyla diferente. Entre ellos, los géneros *Acinetobacter, Arthrobacter, Bacillus, Erwinia Klebsiella, Paenibacillus, Pantoea, Pseudomonas* y *Estafilococo,* no se encontraron bacterias endofíticas en los tejidos de la semilla y el tallo de A. bifolio. La tinción de Gram confirmó una distribución del 55% de bacterias positivas y 45% negativas. Todas las cepas fueron más lejos caracterizadas por el análisis de secuencia del gen 16S rRNA. Los resultados muestran que el gen 16S rDNA de cada aislamiento poseía una similitud de 99 a 100% a una especie específica descrita en NCBI GeneBank, y todos los aislamientos fueron clasificado en 13 géneros diferentes.

Según (Charles *et al.,* 2017). El estudio realizado en aislamiento de ADN genómico, el aislado bacteriano rizosferico B2 fue con el más alto grado de actividad herbicida y fue seleccionado y preparado para la identificación usando 16S técnica de secuenciación ribosomal RNA (rRNA). El Kit AxyPrep Multisource ADN genómico Miniprep se usó para aislar el ADN como se describe por el fabricante manual de s. La cantidad de ADN extraído se sometió a electroforesis en gel de agarosa al 0,8%, y los resultados obtenidos se compararon con una escalera de 1 kb.

Estudio demostramos por (Condemarín *et al.,* 2018) menciona que las muestras de suelos cultivados y prístinos alberga microorganismos con potencial fuente de agentes biocontroladoras de nematodos. Estos agentes, *B. subtilis* y *P. putida,*

presentaron una eficiente mortalidad de juveniles de *M. javanica* en pruebas *in vitro*. Estas pruebas revelaron que a diluciones de 1^{10} de los cultivos bacterianos permiten diferenciar la capacidad nematicida entre las cepas aisladas y reducir los costos, tiempo y espacio comparados con los ensayos de invernadero, ideal para medir la dosis y la frecuencia de aplicación. El medio de cultivo alternativo en base del hidrolizado de concha de abanico más melaza, a bajas concentraciones, mostró que es posible el crecimiento de bacterias para hacer un buen uso de los desechos hidrobiológicos producidos en grandes cantidades en las costas del Perú. Este estudio sugiere alternativas de fuentes de nutrientes dirigidas a la producción de biomasa de bacterias benéficas para la agricultura en programas de control biológico para reducir la aplicación de pesticidas.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. La quinua

Según FAO (2018). La quinua es uno de los cultivos más antiguos de la región Andina, con aproximadamente 7000 años de cultivo, en cuya domesticación y conservación han participado grandes culturas como la Tiahuanaco y la Incaica. Su capacidad de adaptabilidad a condiciones adversas de clima y suelo permiten obtenerse cosechas desde el nivel del mar hasta los 4000 metros de altitud (altiplano, salares, puna, valles interandinos, nivel del mar) donde otros cultivos no pueden desarrollarse. Sin embargo, la mayor predominancia de los campos de cultivo está entre los 2500 y 4000 m de altura. Asimismo, puede crecer en una amplia variedad de suelos cuyo pH varíe de 6 a 8,5. Prefiere los franco-arenosos con buen drenaje, ricos en nutrientes especialmente nitrógeno. Es susceptible al exceso de humedad en sus primeros estadios. Se ha observado producciones aceptables en suelos arenosos con déficit de humedad.

2.2.2. Suelo degradado

Según (Scott, D. A., & Baer, S. G. 2018). La degradación del suelo es el proceso degenerativo que reduce la capacidad de los suelos para desempeñar sus funciones. Esto puede obedecer a causas naturales o a consecuencias de las actividades humanas.

2.2.3. Suelo fértil

Según (Verlag G. 2018). La fertilidad de un suelo es la capacidad que tiene el mismo de sostener el crecimiento de los cultivos o la rentabilidad y la sustentabilidad de los agro ecosistemas. Muchas veces se divide a la fertilidad en "química", "física" y "biológica" para su abordaje particular, pero muchas veces resulta complicado separarlas. La fertilidad química se refiere a la capacidad que tiene el suelo de proveer nutrientes esenciales a los cultivos (aquellos que de faltar determinan reducciones en el crecimiento y/o desarrollo del cultivo).

2.2.4. Comunidad microbiana del suelo

Según (Zhang, Q. 2018).Los microorganismos del suelo, denominado como vitales componentes del suelo, juegan un papel crucial en los procesos bioquímicos del suelo, incluyendo la descomposición de materia orgánica, la mineralización y reciclaje de nutrientes, ellos son considerados como un indicador eficaz que es sensible, sensible y relativamente conveniente para evaluar suelo cambios ambientales, en la actualidad numerosos estudios han demostrado que las propiedades biológicas del suelo (por ejemplo, el suelo población microbiana y su estructura, los grupos funcionales microbianos, biomasa microbiana y actividad de la enzima) pueden reflejar la evolución de la calidad del suelo y la fertilidad del suelo y por lo tanto se pueden utilizar como indicadores biológicos de la salud del suelo. Por lo tanto, el conocimiento de la dinámica de microbios del suelo en un determinado ecosistema ayudaría en la comprensión de la dinámica de la calidad del suelo, en

particular las condiciones del suelo en antropogénico cambio inducido.

Zeng et al., (2016) menciona que la diversidad de la comunidad bacteriana edáfica es enorme ya que un solo gramo de suelo puede contener entre 1 x 103 y 1 x 106 especies únicas de bacterias4. De hecho, empleando métodos dependientes de cultivos sólo se ha descrito el 0,001-0,1% del total de los microorganismos en el agua de mar, el 0,25% de agua dulce, un 0,25% de los sedimentos y el 0,3% de los microorganismos del suelo4. Esto implica que una gran mayoría de las bacterias no son cultivables y, consecuentemente, desconocidas para el ser humano. Es posible que ello se deba a que el desconocimiento de los requerimientos nutricionales y fisiológicos para su crecimiento no permita su cultivo en los medios habituales de laboratorio.

2.2.5. Importancia de los microorganismos del suelo

Según Costa J. (2018). Los microorganismos juegan un papel crucial en la defensa de enfermedades y en la promoción del crecimiento de las plantas, así como en cambios en la vegetación, por lo que tienen un papel crítico en el mantenimiento de la calidad del suelo en los sistemas agrícolas. Las características microbianas del suelo pueden indicar cambios en la disponibilidad de recursos, estructura del suelo o contaminación y puede representar una clave importante para entender el impacto de factores ambientales y antropogénicos.

Chotte, J. (2018) Menciona que los microorganismos son indispensables para el mantenimiento de su función ya que están implicados en los ciclos del C, N, P y S, e intervienen en procesos claves como la formación de la estructura del suelo, descomposición de la materia orgánica, eliminación de toxinas, etc. Por otro lado, participan en procesos ecológicos que permiten el funcionamiento de los ecosistemas, y biotecnológicos. Ellos son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica y del ciclo de los nutrientes (carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, etc.)

2.2.6. El rol de las bacterias en la agricultura

Las bacterias del suelo son muy importantes en los ciclos biogeoquímicos y se han utilizado para la producción de cultivos durante décadas. La interacción planta-bacterianas en la rizosfera son los determinantes de la salud de las plantas y la fertilidad del suelo. Las bacterias del suelo de vida libre que son beneficiosas para el crecimiento de las plantas, generalmente denominadas rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR), son capaces de promover el crecimiento de las plantas al colonizar la raíz de la planta. Las PGPR también se denominan rizobacterias que promueven la salud de las plantas (PHPR) o nódulos que promueven las rizobacterias (NPR). Estos están asociados con la rizosfera, que es un importante entorno ecológico del suelo para las interacciones planta-microbio. Las bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas incluyen las cianobacterias de los géneros Rhizobium, Bradyrhizobium, Azorhizobium, Allorhizobium, Sinorhizobium y NMesorhizobium. Bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre o fijadores de nitrógeno asociativos, por ejemplo, bacterias pertenecientes a las especies Azospirillum, Enterobacter, Klebsiella y Pseudomonas., se ha demostrado que se adhieren a la raíz y colonizan de manera eficiente las superficies de la raíz. PGPR tiene el potencial de contribuir a la promoción del crecimiento sostenible de las plantas. En general, la PGPR funciona de tres maneras diferentes: sintetizando compuestos particulares para las plantas, facilitando la absorción de ciertos nutrientes del suelo y disminuyendo o evitando que las plantas contraigan enfermedades. La promoción y el desarrollo del crecimiento de las plantas se pueden facilitar directa e indirectamente. La promoción indirecta del crecimiento de las plantas incluye la prevención de los efectos nocivos de los organismos fitopatógenos. Esto se puede lograr mediante la producción de sideróforos, es decir, pequeñas moléculas de unión a metales. El control biológico de patógenos de plantas transmitidas por el suelo y la síntesis de antibióticos también se han reportado en varias especies bacterianas. Otro mecanismo por el cual la

PGPR puede inhibir los fitopatógenos es la producción de cianuro de hidrógeno (HCN) y / o enzimas degradadoras de la pared celular fúngica, por ejemplo, quitinasa y β-1,3-glucanasa. La promoción directa del crecimiento de las plantas incluye PGPR simbiótica y no simbiótica que funcionan a través de la producción de hormonas vegetales como las auxinas, citoquininas, giberelinas, etileno y ácido abscísico. La producción de indol-3-etanol o indol-3-ácido acético (IAA), los compuestos que pertenecen a las auxinas se han informado para varios géneros bacterianos. Algunos PGPR funcionan como un sumidero para el 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), el precursor inmediato del etileno en las plantas superiores, al hidrolizarlo en α-cetobutirato y amoníaco, y de esta manera promover el crecimiento de la raíz al reducir los niveles de etileno en El entorno micro-rizo. PGPR también ayuda en la solubilización de fosfatos minerales y otros nutrientes, mejora la resistencia al estrés, estabiliza los agregados del suelo y mejora la estructura del suelo y el contenido de materia orgánica. Las PGPR retienen más N orgánico del suelo y otros nutrientes en el sistema planta-suelo, lo que reduce la necesidad de fertilizantes N, P y mejora la liberación de nutrientes, también encontramos bacterias que silabizan fosfatos, inducen la resistencia sistémica, controlan entomopatógenos, inducen al estrés hídrico, bacterias que están en la biorremediación de suelos, aguas y bacterias que producen sideróforos. La presencia de hongos y bacterias endofíticos asintomáticos en plantas se conoció desde el siglo XIX. Se estima que más de 1 millón de especies endofíticos existen en los suelos como también bacterias que superan más de 200 géneros bacterianos de 16 filos, tanto cultivables como no cultivables. (Hayat, *et al* 2017)

2.2.7. Suelo rizosferico

Según (Ben G. 2018). La rizosfera es la mitad oculta de la raíz, que es a su vez, la mitad oculta de las plantas. Sin embargo, la rizosfera, es sin ningún género de dudas el ecosistema terrestre más grande. Consideremos un pastizal, y en éste, un metro cuadrado de productores primarios (la hierba). Ese metro cuadrado, se corresponde con una superficie de (al menos) tres órdenes de magnitud mayor de rizosfera, ubicada bajo el nivel del suelo. Si generalizamos esta consideración a todas las porciones de tierra vegetada, llegaremos a la conclusión de que la rizosfera es el ecosistema terrestre más extenso.

La rizosfera se extiende a pocos milímetros del área abarcada por la raíz, donde habitan un aproximado de células microbianas por gramo de raíces. La rizosfera está dividida en:

a) Endorizósfera: conformada por el tejido radicular incluyendo endodermis y capas corticales
b) Rizoplano: es la superficie de la raíz donde partículas del suelo y microorganismos se adhieren; está conformado por la epidermis, corteza y capa de polisacárido mucilaginoso.
c) Ectorizósfera: consiste en el suelo seguidamente adyacente a la raíz.

2.2.8. Diversidad bacteriana del suelo y sistemas de estudio.

Según Choudhary, M. (2018) El término biodiversidad microbiana, describe el número de especies de microorganismos diferentes y su abundancia relativa en una comunidad determinada en un hábitat dado. Tradicionalmente, este número se ha estimado para el total de células procariotas sobre la tierra en 4-6 10^{30}, idea que comprende entre 10^{6} y 10^{8} genoespecies separadas (grupos taxonómicos distintos basados en el análisis secuencias de genes). Esto representa un enorme potencial biológico y genético que puede ser explotado para recuperar posibles nuevos genes, definir rutas metabólicas enteras y sus productos relacionados. Se ha estimado que la diversidad microbiana del suelo está dentro de un rango de 3000 y 11000 genomas por gramo de suelo. Sin

embargo, la inmensa diversidad genética y fenotípica de bacterias y hongos hacen de esta comunidad una de las más difíciles de estudiar. Es de resaltar que la utilización de iniciadores universales para la amplificación PCR de diversos genes 16S del total del ADN de la comunidad, han generado una vasta cantidad de datos acerca del taxa y de especies presentes en un hábitat, redefiniendo la diversidad procariota. De esta manera este tipo de estudios han revolucionado la ecología microbiana, por ejemplo, suelos que han mostrado ser poco diversos cuando se analizan con técnicas de cultivo tradicional, han mostrado, mediante el análisis de 16S, ser los hábitats más ricos en diversidad de procariotas sobre la tierra. Si bien el análisis del ARNr 16S proporciona una valiosa información acerca de la diversidad y la evolución de los microbios, este da pocos datos acerca de la información genética de los diferentes microorganismos de la comunidad y del papel funcional de estos dentro de su hábitat. Para determinar una posible relación entre la diversidad y la funcionalidad de las comunidades bacterianas presentes en el suelo se requiere de estudios complementarios.

Zheng, J. (2018) ha sugerido que el 99% de las bacterias observadas bajo el microscopio no son cultivables por las técnicas comunes de laboratorio, por lo que se puede suponer que ese 1% es representativo de la entera población y que ese 99% es simplemente un estado fisiológico que evita que sean cultivados en los medios actuales, o que es posible que el 99% sean fenotípicamente y genéticamente diferentes de ese 1% y solo la minoría de la población está representada. Para vencer este obstáculo del estudio dependiente de cultivo, se han desarrollado varios métodos para identificar y estudiar esos microorganismos, como el análisis de ácidos grasos y métodos como las diferentes variaciones de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en ingles) para analizar ADN y ARN. Típicamente regiones de ADN que codifican para el 16S ARNr, 18S ARNr o ITS son blancos para la construcción de iniciadores para el estudio de la diversidad, ya que estos genes están presentes en todos los microrganismos y poseen regiones

definidas para la clasificación taxonómica que no están sujetas a transferencia.

2.2.9. Diversidad alfa

Diversidad alfa es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea, la diversidad alfa es el número de especies que viven y están adaptadas a un hábitat homogéneo, cuyo tamaño determina el número de especies por la relación área especies en la cual, a mayor área, mayor cantidad de especies.

La medida más apropiada de diversidad es simplemente el número de especies por cada unidad de área representada en algún tipo de muestra estándar. Para la comparación de diferentes localidades se debe tomar en cuenta que el valor de la diversidad alfa es expresado como el número de especies el cual no es independiente del tamaño de la muestra, una curva de acumulación de especies debe ser establecida para cada tipo de localidad en particular que corresponde a la clase que precisa la comunidad en un área geográfica dada. Una vez se conozca el esfuerzo de captura necesario para llegar a un valor asintótico para la diversidad real, se puede aplicar el mismo esfuerzo para todas las localidades similares dentro de un paisaje, de estos surge el interés en trabajar con un promedio de valores alfa que corresponden a diferentes capturas entre el mismo tipo de comunidad en un paisaje dado (Thies, 2016).

2.2.10. Diversidad beta

Se refiere al estudio de diversidades entre hábitats o sitios, Whittaker definió que la diversidad beta puede medirse a partir de la presencia o ausencia de especies o a partir de los datos cuantitativos de abundancia, si la diversidad beta se mide entre pares de sitios, esta puede variar de par a par. Para analizar este tipo de variaciones se utilizan distancias ecológicas. La ventaja del uso de distancias es que se puede resumir la variación en la composición de especies en un solo valor; la desventaja es que se pierde la información sobre la identidad de las especies. Una distancia ecológica será buena si logra describir las diferencias entre la

composición de especies para sitios que comparten la mayoría de las especies con una distancia pequeña, mientras que, para los sitios con pocas especies, la distancia será grande. Para el cálculo de las distancias ecológicas existen varias posibilidades de calcular el tipo de valor que hay entre distancias que se miden en el intervalo entre cero y uno. Los valores de distancia de Bray Curtis y Kulczynski son cercanos a cero donde indican que el sitio comparado tiene una composición similar de especies, mientras que si el valor se acerca a uno implica que la composición varía entre sitios. Otras distancias calculan valores no restringidos, que pueden ser mayores a uno. Otras medidas de distancia tienen en cuenta solo las diferencias en presencia y ausencia de especies, entre ellas: Jaccard y Sorenson. (Thies, 2016).

2.2.11. Diversidad gamma.

La diversidad gamma es definida como la riqueza de especies de un grupo de hábitats (un paisaje, un área geográfica, una isla) que resulta como consecuencia de la diversidad alfa de las comunidades individuales y del grado de diferenciación entre ellas la diversidad beta. (Qingshui, *et al., 2018*).

Según Qingshui, *et al. 2018*. Describe los pasos para poder realizar los estudios y medir la biodiversidad de una comunidad en áreas que incluyen más de un tipo de comunidad se limitan a presentar listas de especies de sitios puntuales (diversidad alfa), describiendo la diversidad regional (gamma) únicamente en términos de números de especies, o bien con cualquier otra medida de diversidad alfa. Algunos estudios llegan a hacer comparaciones entre los sitios (diversidad beta), pero no incluyen esta información en una medida de la biodiversidad basada tanto en alfa como en beta. La medición de la diversidad gamma con base en los componentes alfa, beta y la dimensión espacial se define de la siguiente manera:

Gamma = diversidad alfa promedio x diversidad beta x dimensión de la muestra donde:

- diversidad alfa promedio= número promedio de especies en una comunidad
- diversidad beta = inverso de la dimensión específica, es decir, 1/número promedio de comunidades ocupadas por una especie.
- dimensión de la muestra = número total de comunidades.

2.2.12. Método dependiente de cultivo celular

(Condemarín *et al.,* 2018) menciona que el método dependiente basado en el aislamiento preliminar de células permite obtener ADN con integridad y pureza mayores, aunque los aislamientos de la cantidad de especies son menores (1% hasta 10% por gramo suelo), en este método las bacterias son aisladas a partir del suelo, cultivos, rizósferas, etc. Las muestras de suelos u otros tipos de muestras son colocadas directamente en placas Petri que contienen un medio adecuado y se esparce en toda superficie de la placa para luego incubarlas a 27°C por 24 h. Posteriormente son purificados, finalmente, se realiza una siembra por duplicado de cada bacteria para extracción de ADN y el almacenamiento con glicerol (15%) a -20°C.

2.2.13. Método de siembra de colonias

Arias Cifuentes, E., & Piñeros Espinosa, P. (2018) menciona que para el aislamiento de colonias se emplea dos métodos, uno de ellos es el estriado por agotamiento, en el cual se divide al agar en tres secciones. Inicialmente, el asa de inoculación se esteriliza al pasarla por el fuego, se deja enfriar y se toma una cierta cantidad de la caja Petri con bacterias para luego hacer una inoculación a manera de zigzag (estriado) en la primera sección del agar. Después, se esteriliza el asa, se deja enfriar en una sección del agar y se hace el estriado en la segunda sección del agar teniendo en cuenta que las líneas deben tocarse en dos puntos con el estriado anterior. A continuación, se pasa por el fuego el asa para esterilizar, se deja enfriar en una esquina del agar y se realiza el estriado en la tercera sección tomando en cuenta que debe tocarse en un punto con

el estriado de la segunda sección. El segundo método consiste en estriado por ángulo recto, para lo cual se esteriliza el asa de inoculación, se deja enfriar en el agar y se escoge una pequeña cantidad de bacterias con el asa. Sobre el medio de cultivo de una nueva caja Petri se traza una línea recta vertical, después se esteriliza el asa, se deja enfriar y sobre toda la línea recta se realiza el estriado. Finalmente, las dos cajas Petri se llevan a la incubadora.

2.2.14. Medio de cultivo.

Bastidas C. (2018) hace mención que un medio de cultivo es una técnica de laboratorio que consta de un gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas. Según lo que se quiera hacer crecer, el medio requerirá unas u otras condiciones. Generalmente se presentan desecados en forma de polvo fino o granular antes de ser preparados; ya preparados pueden encontrarse en estado sólido, semisólido o líquido. El objetivo último del cultivo es variado: antibiograma, identificación, multiplicación.

La preparación de medios de cultivo y la fase de esterilización es de suma importancia en microbiología ya que siempre se requiere trabajar en condiciones asépticas. El reconocer la omnipresencia de microorganismos nos ayuda a prevenir contaminaciones a futuro y prever posibles consecuencias cuando de microorganismos se trata (Madigan, Martinko & Parker, 2009)

2.2.15. Medio de cultivo YEM (Extracto de YEast – Manitol)

Esta es una receta muy básica usada para cultivar microrganismos su composición es la siguiente:

Manitol	5 g
Extracto de levadura	0.5 g
$MgSO_4$ x $7H_2$ 0	0.2 g
NaCl	0.1 g
K_2 HPO_4	0.5 g

Agua destilada 1 litro

Se esterilizó en autoclave a 121 ºC durante 20 min.

2.2.16. Conservación de bacterias.

Según (Arencibia D. 2008) los métodos más usados es el empleo de agentes crioprotectores, estas sustancias protegen del daño que se pueda producir en las células microbianas en el momento de la congelación. Existen muchos compuestos que se pueden utilizar como crioprotectores, pero el que se utiliza con más frecuencia es el glicerol, a una concentración del 15 al 20%. También se pueden utilizar el dimetilsulfóxido, la leche descremada y carbohidratos como glucosa, lactosa, sacarosa, inositol, etc. En su elección influye el tipo de microorganismo que se quiera conservar.

2.2.17. Las aplicaciones del análisis del rRNA 16s.

Mauricio M. (2018). Manifiesta que la secuenciación del rRNA es el método de elección para determinar relaciones taxonómicas altas (arriba del nivel de género). Debido a que la molécula de rRNA 16S contiene regiones altamente variables, es usualmente posible el encontrar regiones de 20 a 30 bases que son completamente exclusivas de una sola especie de bacterias. La caracterización filogenética de los organismos es más que un ejercicio de taxonomía, puesto que las relaciones evolutivas están establecidas en una forma creíble y cuantitativa. Se espera que los organismos cercanamente relacionados sean similares en sus propiedades bioquímicas generales; por el contrario, la diversidad en las secuencias de rRNA indica diferencias bioquímicas potenciales.

2.3. Bases conceptuales

2.3.1. Microbiología

La Microbiología se puede definir, sobre la base de su etimología, como la ciencia que trata de los seres vivos muy pequeños, concretamente de aquellos cuyo tamaño se encuentra por debajo del poder resolutivo del ojo humano. Esto hace que el objeto de esta disciplina venga determinado por la metodología apropiada para poner en evidencia, y poder estudiar, a los microorganismos. Precisamente, el origen tardío de la Microbiología con relación a otras ciencias biológicas, y el reconocimiento de las múltiples actividades desplegadas por los microorganismos, hay que atribuirlos a la carencia, durante mucho tiempo, de los instrumentos y técnicas pertinentes. Con la invención del microscopio en el siglo XVII comienza el lento despegue de una nueva rama del conocimiento, inexistente hasta entonces. Durante los siguientes 150 años su progreso se limitó casi a una mera descripción de tipos morfológicos microbianos, y a los primeros intentos taxonómicos, que buscaron su encuadramiento en el marco de los "sistemas naturales" de los Reinos Animal y Vegetal (Chotte, J.-L. 2018).

2.3.2. El suelo y los microorganismos

El suelo es un ecosistema que contiene cinco grupos principales de microorganismos: bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios considerados habitantes de la comunidad. Las bacterias tienen una amplia diversidad bioquímica por ello son las mas abundantes de los cuatro grupos, el número en el suelo es grande aunque los individuos miden micras de longitud, aunque son menos de la mitad de la masa celular microbiana total. Las bacterias en un suelo con oxigeno son dominantes y responsables de las transformaciones de la materia orgánica ya que crecen rápidamente y mineralizan una amplia gama de compuestos orgánicos naturales, las bacterias se dividen en dos tipos: los géneros nativos o autóctonos que son residentes verdaderas del suelo y las invasores o alogénas; las nativas tienen fases de permanencia por largo

tiempo sin actividad metabólica, aunque mediante inducción nutricional proliferan de acuerdo con su capacidad bioquímica. Los géneros alogenas, no son activos en las transformaciones de la materia orgánica del suelo, ingresan con la lluvia, en tejidos vegetales enfermos, en el estiércol o en aguas negras, permanecen cierto tiempo en inactivas o crecen por corto tiempo, por ello no contribuyen a la mineralización de la materia orgánica así como en las interacciones ecológicas (Chotte, J.-L. 2018).

2.3.3. El papel de los microorganismos en las enfermedades

Durante el siglo XIX la atención de muchos naturalistas se había dirigido hacia las diversas formas de animales y plantas que vivían como parásitos de otros organismos. Este interés se redobló tras la publicación de los libros de Darwin, estudiándose las numerosas adaptaciones evolutivas que los distintos parásitos habían adquirido en su peculiar estilo de vida. Sin embargo, la adjudicación de propiedades de parásitos a los microorganismos vino del campo médico y veterinario, al revalorizarse las ideas sobre el origen germinal de las enfermedades infecciosas (Behrendt, U. et al., 2002).

2.3.4. Biorremediacion de suelos con micoorganismos

Tratar los suelos contaminados es uno de los retos más grandes en la actualidad, debido a las características del suelo, el tipo de contaminante y el entorno. De acuerdo a su definición, la Biorremediación es utilizada para describir una variedad de sistemas que usan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Este proceso biológico depende de diferentes actividades catabólicas de los organismos y, por ende, de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía. Las rutas de biodegradación de los contaminantes orgánicos, varían en función de la estructura química de las tecnologías de Biorremediación compuesta y de las microbianas degradadoras. Este proceso incluye reacciones de óxido-reducción,

procesos de absorción e intercambio iónico, e incluso reacciones de acomplejamiento y quelación que resultan en la inmovilización de metals (Behrendt, U. *et al*., 2002)

2.4.Definición de términos

Rizósfera. - La rizósfera es un complejo y dinámico microambiente, donde las bacterias y hongos, en asociación con las raíces, forman comunidades únicas que tienen considerable potencial para la detoxificación de compuestos orgánicos nocivos.

Ecosistema. -Un ecosistema es una unidad compuesta de organismos interdependientes que comparten el mismo hábitat.

Genómica. -Es el conjunto de ciencias y técnicas dedicadas al estudio integral del funcionamiento, el contenido, la evolución y el origen de los genomas.

Genoma. - Es el conjunto de genes contenidos en los cromosomas lo que puede interpretarse como la totalidad del material genético que posee un organismo o una especie en particular.

Plásmidos. - Son moléculas circulares de ADN que se replican de manera independiente al cromosoma de la célula hospedera.

Secuenciación. -Es un conjunto de métodos y técnicas bioquímicas cuya finalidad es la determinación del orden de los nucleótidos (A, C, G y T) en un oligonucleótido de ADN.

ADN. - Ácido desoxirribonucleico, abreviado como ADN, es un ácido nucleico que contiene las instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos y algunos virus, y es responsable de su transmisión hereditaria.

Gen 16S.- Es un componente de la subunidad 30S de los ribosomas procariontes que se une a la secuencia de Shine-Dalgarno. Los genes que lo codifican son conocidos como genes del 16 rRNA, y se utilizan para la reconstrucción de filogenias debido a sus bajas tasas de evolución.

ADN ribosómico. - El **ADN ribosómico** (ADNr) es una secuencia de ADN contenida en los cromosomas del nucléolo que codifica ARN ribosómico.

Bioinformática. - Es la aplicación de tecnologías computacionales a la gestión y análisis de datos biológicos.

Secuencia de ADN. - Una secuencia de ADN, secuencia de nucleótidos o secuencia genética es una sucesión de letras representando la estructura primaria de una molécula real o hipotética de ADN o banda, con la capacidad de transportar información.

Lisis. - Es el proceso de ruptura de la membrana celular de células o bacterias que produce la salida del material intracelular, provocado por lisinas.

PCR. - Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de ADN; su utilidad es que tras la amplificación resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad, virus o bacterias causantes de una enfermedad, identificar personas (cadáveres) o hacer investigación científica sobre el ADN amplificado.

Oligonucleótidos. - Es una secuencia corta de ADN o ARN, con cincuenta pares de bases o menos. Tienen distintas funciones: se utilizan como cebadores en reacciones de amplificación, como sondas de hibridación y en bloqueos específicos de ARN mensajero.

Polimerasa. - El ADN polimerasa es la enzima que lleva a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), una técnica que ha desempeñado un papel esencial en el desarrollo de la genética.

Amplificación. - También definida como agrandar la intensidad de algo, por lo general, podría ser luz o magnetismo, etc. En términos particulares se define para amplificar genéticamente genes de ADN.

PGPRs. - (plant growth-promoting rhizobacteria) Rizobacterias Promotoras del crecimiento vegetal.

2.5. Variables

Independiente

- Suelo rizosférico
- Suelo no rizosférico

Dependiente

- Población bacteriana rizosférica
- Población bacteriana no rizosférica

2.6. Operacionalización de variables

Tabla 1. Definición operativa de variables e indicadores.

Variable	Definición operacional	Indicador	Instrumento	Escala
Independiente Suelo rizosférico Suelo no rizosférico	Las bacterias se obtendrán del suelo rizosférico y no rizosféricos de la quinua sembrados en suelo	Numero de bacterias Numero de bacterias	Lupa Lupa	Unidad formadora de colonias.
Dependiente Población bacteriana rizosférica Población bacteriana no rizosférica	Secuencias de ADN Secuencias de ADN	Numero de bacterias Numero de bacterias	Secuenciador Secuenciador	ADN ADN

CAPÍTULO III:

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Ambito temporal y espacial

El presente trabajo de investigación se realizó durante la campaña grande del (2016-2017), en el distrito de Huando – Huancavelica.

a) Ubicación política

Departamento	: Huancavelica
Provincia	: Huancavelica
Distrito	:Huando
Lugar	: ´´ Huando´´

b) Ubicación geográfica

Latitud Sur	:12° 33´ 52”
Longitud Oeste	:74° 56 ´ 50”
Altitud	: 3562 m s n m

c) Factores climáticos

Temperatura promedio	: 11°C
Humedad relativa	: 45 %

Precipitación promedio anual: 750 mm

d) Duración

Inicio	: Octubre, 2016
Culminación	: Diciembre, 2018

3.2. Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación corresponde al tipo de investigación descriptiva, orientada a la caracterización de bacterias rizosférico y no rizosférico de quinua crecidas en Huando- Huancavelica.

3.3. Nivel de investigación

Pertenece al nivel de investigación básico.

3.4. Población, muestra y muestreo

3.4.1. Población

Según Cursio, (2002) la población, es la totalidad de individuos o elementos en los cuales puede presentarse determinada característica susceptible de ser investigada. Por lo tanto, la población de la presente investigación estuvo dado por tada la diversidad bacteriana integrada en el suelo rizosférico y no rizosférico de plantas de quinua.

3.4.2. Muestra

Según Bernal, (2002), muestra es la parte de la población que se selecciona y de la cual realmente se obtiene la información para el desarrollo del estudio y sobre la cual se efectuaron la medición y la observación de las variables objeto de estudio. Por tanto, la muestra estaba constituida por 10 g de suelo peso húmedo por cada tipo de suelo.

3.4.3. Muestreo

Según Cursio, (2002), muestreo no probabilístico es un tipo de muestra que no sigue el proceso aleatorio o al azar, que se caracteriza por que el investigador selecciona su muestra siguiendo algunos criterios identificados para los fines de investigación que desea realizar. Por lo tanto, el tipo de muestreo correspondió al no probabilístico

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de datos en el trabajo de investigación se utilizó la técnica de observación, medición y deducción según la variable que se evaluó.

Tabla 2.Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Técnica	**Instrumento**
Muestreo de suelos rizosférico y no rizosférico de la quinua	Recolecta y Tamizado
Pesar un gramo de suelo y diluir en solución salina y tomar la muestra 10-4	Balanza analítica y tubos de ensayo
Siembra y aislamiento de bacterias	Placas petri
Purificación de bacterias	Placas petri
Extracción de ADN	Equipo de extracción de ADN
Amplificación del Gen 16S rRNA	Termociclador
Secuenciación	Equipos de secuenciador de ADN
Construcion del árbol filogenetico	Bioinformatica

a) Recolección de muestras de suelos para el análisis de suelo.

Se ha utilizado suelos de las dos chacras después del aporque del cultivo de quinua para poder determinar su fertilidad. Las muestras se tomaron al azar, de 0 a 20 cm de profundidad, en 3 zonas distintas de cada chacra siguiendo la metodología propuesta por Soil Survey Staff (2009). Las muestras se enviaron a la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM-Lima, Perú), donde se analizaron en el laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, que emplea la metodología descrita por Chapman y Pratt (1973).

b) Recolección de muestras de quinua para análisis foliar.

Para la toma de muestras se siguió loa metodología de barbazan (1998), que utiliza hojas del tercio medio de plantas en periodo de floración. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM-Lima, Perú), que emplea la metodología descrita por Chapman & Pratt (1973).

c) Recolección de muestras de suelo rizosférico y no rizosférico

Según MINAM (2018). Se recolectó 30 plantas del suelo fértil rizosférico, 30 plantas del suelo degradado rizosférico en etapa de panojamiento, se recolectó 10 g de suelo no rizosférico de suelo fértil y suelo degradado, las muestras fueron codificados en un recipiente adecuados y trasladados al laboratorio de Interacciones Beneficiosas Planta Microorganismo de la Universidad Nacional de Huancavelica (UNH-HVCA, Perú).

Ilustración 1. Muestreo de suelo rizosférico de plantas de quinua.

d) Tamizado de muestras y conservación.

Siguiendo los pasos de Baeza A. (2003). Una vez obtenida las muestras de suelo se trabajó en un ambiente aceptico para llevar a cabo un proceso de muestreo de suelo íntimamente adeherido a la raíz aproximadamente 2 mm, una vez separado el suelo rizosférico y no rizosférico se determinó la distribución de tamaño de partícula (curva de tamizado), finalmente se conservó 1 g de muestras de suelos degradado rizosférico, degradado no rizosférico, fértil rizosférico y fértil no rizosférico en criotubos con 4 repeticiones debidamente codificados a -20 °C.

Ilustración 2. Toma de muestras de suelo rizosférico y no rizosférico de suelos degradado y fértil.

Ilustración 3. Codificación y conservación de muestras de suelo rizosférico y no rizosférico de suelos degradado y fértil.

e) Preparación de solución salina

Según Sharin G. (2018). Se preparó solución salina 0,85%

a) Se pesó 8.50 g de NaCl.
b) Se adicionó 8.50 g de NaCl en una botella.
c) Se agregó agua destilada hasta llenar la botella de un litro.
d) Se distribuyó 9 ml de solución salina a tubos de ensayo.
e) Se aseguró las tapas de los tubos de ensayo.
f) Se colocó en baso beaker para su esterilización.
g) Finalmente se esterilizó a 120 °C por 20 minutos.

f) Aislamiento de bacterias

a) Se pesó 1g de suelo rizosférico y 1 g de suelo no rizosférico.
b) Se adicionó a la solución salina (0,85%) de 9 ml.
c) Se procedió la dilución respectiva hasta 10^{-1} en 9 ml de solución salina.
d) En cada dilución se empleó 1 ml de la solución y posteriormente se utiliza la dilución 10^{-1} para sembrar en placas Petri utilizando el medio YEM, (Dobereiner, 1990).
e) Después de sembrar se incubó a 28 °C durante 72 horas.

f) Una vez formadas las colonias (UFCs) con diferente morfología se seleccionó mediante inspección de una lupa de aumento de 10X.

g) Cada colonia se resembró en placas Petri hasta la obtención de colonias morfológicamente uniformes.

No se observó la aparición de nuevas UFCs después de 72 horas de incubación.

g) Codificación de aislados por medio de cultivo

Al obtener aislados puros y axénicos se realizó la codificación para su posterior envio para su secuenciación.

Tabla 3. Código de aislados.

MEDIO DE CULTIVO	SUELO FÉRTIL		SUELO DEGRADADO	
	RIZOSFERICO	NO RIZOSFERICO	RIZOSFERICO	NO RIZOSFERICO
YEM	1, 2, 3 y 4	I y II	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 y A8	a1, a2, a3
	B1, b1, C1 y c1	V1, V2, V3, V4, V4, V6, V7, V 8, V9 y V10	V11, V12, V13, V14 y V15	V16, V17, V18, V19 Y V20
	D1, d1, F1 y f1	V21, V22, V23, V24, V25, V26 y V27	M7, M8 y M9	R1, R2, R3 y R5
	G1, G2, G3, G4, G5 y G6	g1, g2, g3, g4, g5, g6, g7, g8, g9, g10 y g11	H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 y H8	h1, h2, h3, h4, h5 y h6

3.6. Técnicas y procesamiento de análisis de datos.

Para el análisis de la diversidad bacteriana se utilizó el gen 16S rRNA y a nivel de especie se utilizó el procesamiento bioinformático utilizando Chromas 2.6.6 y MEGA X 10.0.5. Las secuencias limpias se compararon con las depositadas en GenBank mediante el programa BLASTN disponible en el National Center for Biotechnology Information (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov/).

CAPITULO IV:
RESULTADOS

4.1. Análisis de información

4.1.1. Propiedades fisicoquímicas de los suelos de alta fertilidad.

La interpretación de acuerdo a Guerrero 1998 analizados en el laboratorio de la UNALM, Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes que los suelos de la chacra del Distrito de Huando tienden a clasificarse con valores altos en pH, sim problemas de sales, alto contenido de calcio, adecuado contenido de carbonatos, bajo contenido de P en las muestras de suelo F2, F3, contenido medio de P en el suelo FAS 2, contenido adecuado de P en el suelo FAS 3, y con valores altos de P en los suelos FA 1, FA 2, FA 3 Y FAS 1. Bajo contenido de M.O. Según los porcentajes de clasificación de are, limo y arcilla está dentro de la clase textural franco arcilloso.

Tabla 4. Resultado del análisis de suelos de alta fertilidad.

PARÁMETROS			suelos con diferentes fertilizaciones		
			SUELO FÉRTIL	SUELO FÉRTIL CON FERTILIZACIÓN EN APORQUE	SUELO FÉRTIL CON FERTILIZACIÓN EN SIEMBRA Y APORQUE
Análisis mecánico	Arena	%	36	40	42
	Limo	%	27	27	27
	Arcilla	%	37	33	31
Clase textural			Fr.Ar.	Fr.Ar.	Fr.Ar.

pH (1:1)			8.13	7.93	7.87
C. E (1:1) (dS/m)			0.21	0.55	0.67
CaCO3 (%)			10.20	9.10	9.00
M.O (%)			1.98	1.72	1.77
P (ppm)			8.80	53.20	33.20
K (ppm)			390.00	227.00	248.00
CIC		meq/100g	31.20	29.60	27.20
Cátiones cambiables	Ca++		28.08	26.92	24.37
	Mg++		1.97	1.80	1.92
	k+		0.94	0.49	0.54
	Na+		0.21	0.39	0.37
	Al+3 H+		0.00	0.00	0.00
Suma de cationes			31.20	29.60	27.20
Suma de bases			31.20	29.60	27.20
% Saturación de bases			100	100	100

4.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los suelos degradados.

La interpretación de acuerdo a Guerrero 1998 analizados en el laboratorio de la UNALM, Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y fertilizantes que los suelos de la chacra del Distrito de Huando tienden a clasificarse con valores altos en PH, sim problemas de sales, alto contenido de calcio, adecuado contenido de carbonatos, muy bajo contenido de P en las muestras de suelo D2, D3, contenido bajo de P en los suelos DA 3, contenido optimo en el D1, DAS 1, DAS 2, DAS 3, y con valores altos de P en los suelos DA 1, DA 2, bajo contenido de M.O. Según los porcentajes de clasificación de are, limo y arcilla está dentro de la clase textural franco arcilloso.

Tabla 5. Resultado del nálisis de muestras de suelo degradado.

PARÁMETROS			suelos con diferentes fertilizaciones		
			SUELO DEGRADADO	SUELO DEGRADADO CON FERTILIZACIÓN EN APORQUE	SUELO DEGRADADO CON FERTILIZACIÓN EN SIEMBRA Y APORQUE
Análisis	Arena	%	42	42	42
	Limo	%	31	31	27
	Arcilla	%	27	27	31
Clase textural			Fr.Ar.	Fr.Ar.	Fr.Ar.
pH (1:1)			7.80	7.67	7.91
C. E (1:1) (dS/m)			0.57	1.28	0.52
CaCO3 (%)			14.30	14.00	13.50
M.O (%)			1.08	0.92	1.45
P (ppm)			33.40	77.60	33.30
K (ppm)			148	193	199
CIC		meq/100g	21.44	22.40	23.52
Cátiones cambiables	Ca++		18.88	20.00	21.28
	Mg++		1.92	1.80	1.77
	k+		0.30	0.36	0.22
	Na+		0.34	0.24	0.25
	Al+3 H+		0.00	0.00	0.00
Suma de cationes			21.44	21.40	23.52
Suma de bases			21.44	22.40	23.52
% Saturación de bases			100	100	100

4.1.3. Resultado de análisis foliar de quinua crecidas en suelo fértil.

El análisis foliar de la quinua fue realizado en los laboratorios de la UNALM Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, se analizaron el contenido de macro y micronutrientes de las hojas de la quinua.

Tabla 6. Resultado del análisis foliar de hojas de quinua de los suelos de alta fertilidad.

PARÁMETROS	HOJAS DE QUINUA CON DIFERENTES FERTILIZACIONES		
	HOJA DE SUELO FÉRTIL	HOJA DE SUELO FÉRTIL CON FERTILIZACIÓN EN APORQUE	HOJA DE SUELO FÉRTIL CON FERTILIZACIÓN EN SIEMBRA Y APORQUE
N %	3.40	5.10	3.80
P %	0.31	0.37	0.31
K %	3.75	4.10	4.23
Ca %	2.09	2.53	3.18
Mg %	0.70	0.90	1.18
S %	0.36	0.29	0.31
Na %	0.02	0.02	0.02
Zn ppm	48	31	30
Cu ppm	5	5	6
Mn ppm	244	207	211
Fe ppm	109	112	115
B ppm	40	36	46
M.S. %	21.89	20.03	21.11

4.1.4. Resultado de análisis foliar de quinua crecidas en suelo degradado

El análisis foliar de la quinua fue realizado en los laboratorios de la UNALM Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, se analizaron el contenido de macro y micronutrientes de las hojas de la quinua.

Tabla 7. *Resultado del análisis foliar de hojas de quinua del suelo degradado.*

PARÁMETROS	HOJAS DE QUINUA CON DIFERENTES FERTILIZACIONES		
	HOJA DE SUELO DEGRADADO	HOJA DE SUELO DEGRADADO CON FERTILIZACIÓN EN APORQUE	HOJA DE SUELO DEGRADADO CON FERTILIZACIÓN EN SIEMBRA Y APORQUE
N %	3.10	4.80	5.00
P %	0.27	0.39	0.34
K %	4.05	4.58	5.20
Ca %	2.97	2.87	2.67
Mg %	1.03	1.00	1.15
S %	0.30	0.25	0.28
Na %	0.03	0.02	0.03
Zn ppm	48	44	32
Cu ppm	4	8	6
Mn ppm	208	118	109
Fe ppm	85	110	134
B ppm	36	19	20
M.S. %	22.10	21.01	20.67

4.1.5. Diversidad bacteriana a nivel de género.

Entre los 83 aislados de bacterias del suelo rizosférico fértil, suelo no rizosférico fértil, suelo rizosférico degradado y suelo no rizosférico degradado forman parte de este estudio taxonómico de la microbiota del suelo y como ya se ha señalado en el capítulo de resultados, se encontró 21 géneros como *Arthrobacter, Plantibacter, Curtobacterium, Janibacter, Tsukamurella, Rhodococcus, Streptomyces, Paenibacillus, Staphylococcus, Bacillus, Phyllobacterium, Agrobacterium, Stenotrophomonas, Variovorax, Acinetobacter, Pseudomonas, Erwinia, Rhanella, Serratia, Pantoea* y *Enterobacter* de las cuales los generos de mayor cantidad son *Arthrobacter* que es un género de bacterias

comúnmente encontradas en el suelo, todas las especies de este género son bacterias Gram-positivas, aerobias obligadas y con forma de bacilo durante la fase de crecimiento exponencial y de coco durante la fase estacionaria, los cocos son resistentes a la desecación y a la falta de nutrientes (O'Loughlin, E. 1999). Por otro lado, el grupo de mayor cantidad de generos es *Pseudomonas* que tambien constituyen un género específico del bacilo que ha estado aumentando como un reconocido patógeno oportunista emergente en la relevancia clínica, varios estudios epidemiológicos diferentes indican además que la resistencia a antibióticos ha venido incrementando en las clínicas (Cornelis, P. 2008).

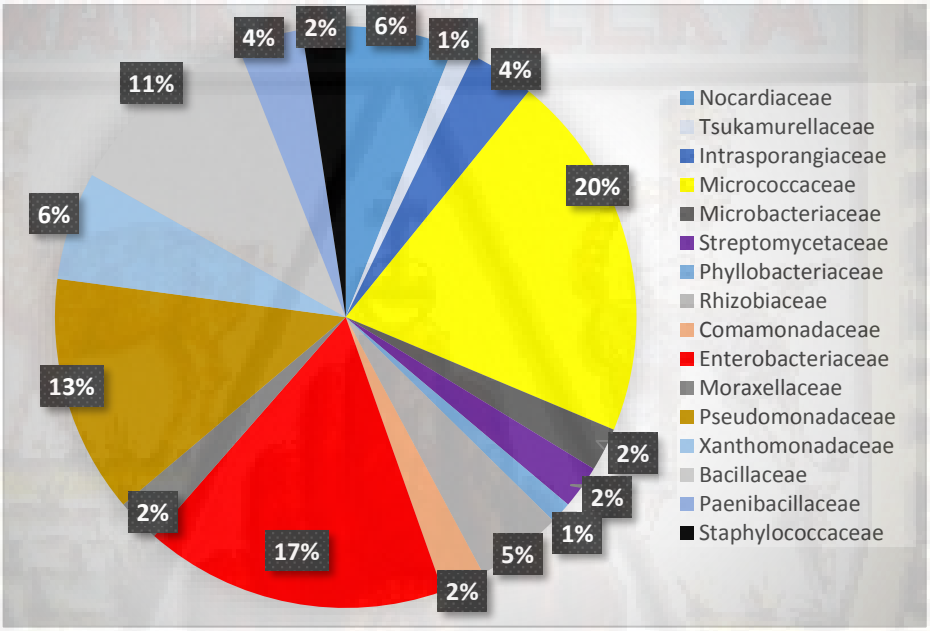


Ilustración 4. Representación gráfica a nivel de género de los aislados.

4.1.6. Diversidad bacteriana de suelo fértil rizosferico

La diversidad bacteriana del suelo fértil rizosferico fue de 17 aislados los cuales fueron identificados mediante la secuenciación “16S rRNA”.

Tabla 8. Diversidad bacteriana del suelo fértil rizosferico (SFR).

N°	CDG	FILA	CLASE	ORDEN	SUB ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
1	1	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus atrophaeus
2	2	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus atrophaeus
3	3	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus atrophaeus
4	B1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales		Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium tumefaciens
5	b1	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
6	C1	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
7	c1	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
8	D1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales		Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium fabrum
9	d1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter cloacae
10	F1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Pantoea	[Curtobacterium] plantarum

11	f1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales		Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium tumefaciens
12	G1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas tumulicola
13	G2	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus peoriae
14	G3	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia
15	G4	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia
16	G5	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
17	G6	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia

4.1.7. Diversidad bacteriana de suelo fértil no rizosferico

La diversidad bacteriana del suelo fértil no rizosferico fue de 26 aislados los cuales fueron identificados mediante la secuenciación “16S rRNA”.

Tabla 9. Diversidad bacteriana del suelo fértil no rizosferico (SFNR).

N°	CDG	FILA	CLASE	ORDEN	SUB ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE
1	I	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
2	II	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus atrophaeus
3	V1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Erwinia	Erwinia rhapontici
4	V2	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Rahnella	Rahnella aquatilis
5	V3	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Rahnella	Rahnella aquatilis
6	V4	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Serratia	Serratia grimesii
7	V6	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacterineae	Nocardiaceae	Rhodococcus	Rhodococcus jialingiae
8	V7	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacterineae	Nocardiaceae	Rhodococcus	Rhodococcus jialingiae
9	V8	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter johnsonii
10	V9	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus zhangzhouensis
11	V10	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Microbacteriaceae	Plantibacter	Plantibacter flavus

12	V22	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Intrasporangiaceae	Janibacter	Janibacter limosus
13	V23	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacterineae	Nocardiaceae	Rhodococcus	Rhodococcus jialingiae
14	V24	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus amylolyticus
15	V25	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus chibensis
16	V27	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Intrasporangiaceae	Janibacter	Janibacter limosus
17	g1	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter oxydans
18	g2	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas moraviensis
19	g3	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
20	g4	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales		Phyllobacteriaceae	Phyllobacterium	Phyllobacterium ifriqiyense
21	g5	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
22	g7	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter globiformis
23	g8	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas kilonensis
24	g9	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus altitudinis

25	g10	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales		Comamonadaceae	Variovorax	Variovorax boronicumulans
26	g11	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales		Comamonadaceae	Variovorax	Variovorax boronicumulans

4.1.8. Diversidad bacteriana de suelo degradado rizosferico

La diversidad bacteriana del suelo degradado rizosferico fue de 22 aislados los cuales fueron identificados mediante la secuenciación "16S rRNA".

Tabla 10. Diversidad bacteriana del suelo degradado rizosferico (SDR).

N°	CDG	FILA	CLASE	ORDEN	SUB ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
1	A1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter aerogenes
2	A2	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacterineae	Tsukamurellaceae	Tsukamurella	Tsukamurella pseudospumae
3	A3	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacterineae	Nocardiaceae	Rhodococcus	Rhodococcus corynebacterioides
4	A5	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter globiformis
5	A6	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus

6	A7	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptomycineae	Streptomycetaceae	Streptomyces	Streptomyces canus
7	A8	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
8	V11	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Microbacteriaceae	Curtobacterium	Curtobacterium flaccumfaciens
9	V12	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Ewingella	Ewingella americana
10	V13	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas putida
11	V14	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas extremaustralis
12	V15	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Microbacteriaceae	Plantibacter	Plantibacter flavus
13	M7	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea agglomerans
14	M8	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus succinus
15	M9	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus siamensis
16	H1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas putida
17	H2	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas kilonensis
18	H3	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas kilonensis
19	H4	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas kilonensis
20	H5	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales		Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium tumefaciens
21	H6	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
22	H7	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas gessardii

4.1.9. Diversidad bacteriana de suelo degradado no rizosferico

La diversidad bacteriana del suelo degradado no rizosferico fue de 17 aislados los cuales fueron identificados mediante la secuenciación “16S rRNA”.

Tabla 11. Diversidad bacteriana del suelo degradado no rizosferico (SDNR).

N°	CDG	FILA	CLASE	ORDEN	SUB ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
1	a2	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
2	a3	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptomycineae	Streptomycetaceae	Streptomyces	Streptomyces novaecaesareae
3	V16	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus megaterium
4	V17	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter johnsonii
5	V18	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	Bacillus zhangzhouensis
6	V19	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas congelans
7	V20	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Intrasporangiaceae	Janibacter	Janibacter limosus
8	R2-1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter aerogenes
9	R2-2	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Rahnella	Rahnella aquatilis
10	R4	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter aerogenes

11	R5	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Rahnella	Rahnella aquatilis
12	h1	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus
13	h2	Firmicutes	Bacilli	Bacillales		Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus saprophyticus
14	h3	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia
15	h4	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales		Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas baetica
16	h5	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales		Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea agglomerans
17	h6	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococcineae	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter nitroguajacolicus

4.2. Discusión de resultados.

A continuación, se presentan los resultados y analisis de caracterización de los aislados obtenidos de diferentes suelos:

4.2.1. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo rizosférico fértil

Bacillus atrophaeus. *Bacillus atrophaeus* es una bacteria grampositiva, aerobia, formadora de endosporas, con forma de bastoncillo, cuya descripción es prácticamente idéntica a la de *Bacillus subtilis*, excepto por la producción de un pigmento en medios que contienen una fuente de nitrógeno orgánico (Nakamura, L. 1989). Muchos de los aislamientos que pertenecen a esta especie fueron previamente clasificados como *Bacillus subtilis* var. *niger*, *Bacillus niger*, o incluso antes como *Bacillus globigii* Varias de estas cepas se utilizan en la industria como organismos de control de esterilización o fuentes de endonucleasas de restricción (Penna, T. & Silva, M. 2001.) pero específicamente dentro de la comunidad de investigación y pruebas de biodefensa, algunas de estas cepas se utilizan ampliamente como sustitutos no patógenos para *Bacillus anthracis* (Turnbough, CL**.** 2003). Los aislamientos utilizados en esta última capacidad aún se conocen comúnmente por su designación histórica de *B. globigii* o simplemente BG.

Nakamura, L. 1989 propuso por primera vez la especie B. *atrophaeus* después de examinar varias cepas pigmentadas y no pigmentadas de *B. subtilis*, usando medidas de reasociación de ADN-ADN, electroforesis de enzimas multilocus y producción de pigmento, demostró que un subgrupo de cepas pigmentadas difería significativamente de las otras cepas pigmentadas y no pigmentadas tipificadas por *B. subtili* y, por lo tanto, justificaba una nueva designación de especie. Las cepas pigmentadas restantes se consideraron variantes verdaderas de *B. subtilis*. Los aislamientos incluidos en el estudio de Nakamura se

reclasificaron en colecciones de cultura disponibles al público recientemente, Fritze y Pukall (Fritze, D. & Pukall, R**.** 2001) examinaron dos cepas adicionales, ATCC 9372 y ATCC 51189, y sobre la base del ribotipado y las medidas de reasociación del ADN-ADN, demostraron la necesidad de reclasificarlas como *B. atrophaeus*. Estas reclasificaciones han resultado en cierta confusión dentro de la comunidad de investigación de defensa de biodefensa, ya que la colocación taxonómica de otros aislamientos utilizados como BG es ambigua.

La variabilidad molecular entre los miembros de la especie *B. atrophaeus* aún no se ha examinado, y, según nuestro conocimiento, no se han realizado análisis comparativos con un análisis o técnica capaz de resolver la variabilidad genética a nivel de cepa, así como a nivel de especie. En este estudio, informamos la caracterización molecular de varias cepas de *B. atrophaeus* y otras especies de *Bacillus* pigmentadas y no pigmentadas seleccionadas mediante el análisis de polimorfismo de longitud de fragmento amplificado (AFLP). Esta técnica de identificación genética altamente discriminatoria ha sido evaluada contra metodologías tradicionales como una herramienta para la taxonomía bacteriana (Janssen, P *et al*., 1996) y ha demostrado ser útil en la detección de variabilidad molecular en cepas bacterianas muy relacionadas **(**Grady, R., *et al.,* 2001) Se identifica un grupo de cepas de *B. atrophaeus* muy estrechamente relacionadas, y se hace una propuesta para la designación de una subespecie.

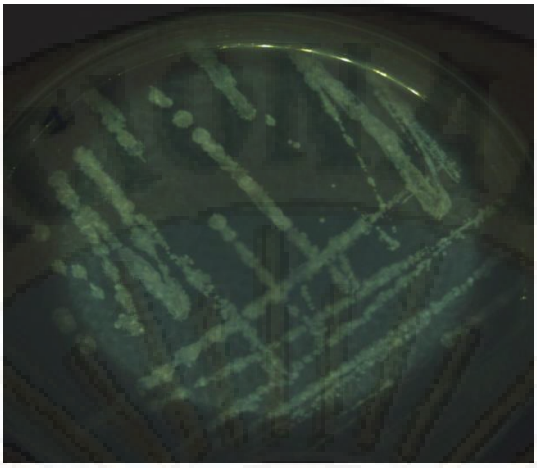


Ilustración 5. *Bacillus atrophaeus.*

Agrobacterium tumefaciens. Gelvin, S. 2000 manifiesta que *agrobacterium tumefaciens* es una proteobacteria alpha, perteneciente a la familia *Rhizobiaceae*; aunque, al contrario que otras bacterias de esta familia, no actúa en simbiosis con las plantas como fijadora de nitrógeno, sino que las parasita, produciéndoles tumores. Según (Kunik, T. *et al*., 2001) menciona que *A. tumefaciens* se ha empleado como instrumento biotecnológico rutinario para el desarrollo de plantas transgénicas, especialmente en plantas dicotiledóneas y, en menor proporción, en monocotiledóneas. Las plantas transformadas mediante Agrobacterium fueron diseñadas para que expresen una característica particular, por ejemplo, resistencia a herbicidas, producción de un nuevo compuesto, mejoramiento de la productividad, etcétera. Los ejemplos son bastantes, (Lee W. *et al*., 2009) reportaron la transformación genética de Brassica napus con un gen que codifica para una proteína de las llamadas oleosinas (clonada a partir de maíz, una monocotiledónea) lográndose la expresión de dicha secuencia en forma específica en algunos tejidos.

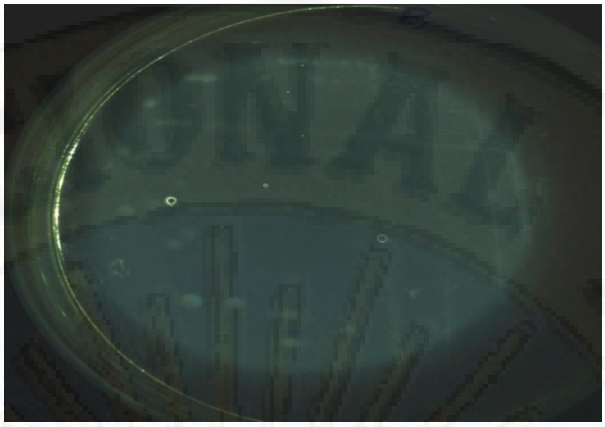


Ilustración 6. *Agrobacterium tumefaciens.*

Arthrobacter nitroguajacolicus. *Arthrobacter* es un género de bacterias que se encuentra comúnmente en el suelo. Todas las especies de este género son grampositivas obligadas. Aerobios que son varillas durante el crecimiento exponencial y cocos en su fase estacionaria (Kotouckova, L. 2004). Este microbio se encontró en una pantalla para detectar organismos que podrían degradarse. Compuestos en suelo contaminado. Las enzimas de este microbio pueden ser útiles para degradar el exceso de residuos de pesticidas en el suelo (George M. & Garrity 2012), según (Pflieger, M. & Kroflič, A. 2017). Arthrobacter nitroguajacolicus tiene la capacidad de degradar 4-nitroguaiacol que es un importante contaminante atmosférico, es el componente principal de la lignina de madera y se emite esencialmente a la atmósfera durante la quema de biomasa

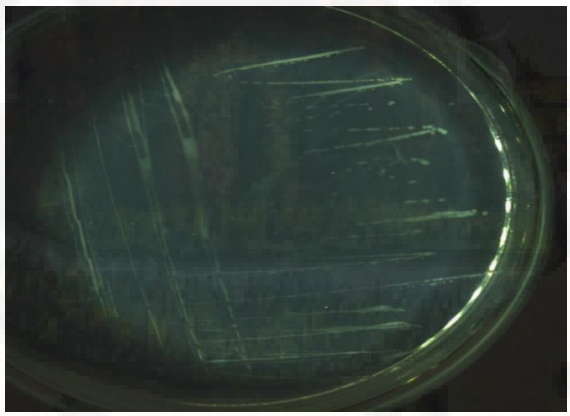


Ilustración 7. *Arthrobacter nitroguajacolicus.*

***Agrobacterium fabrum*.** Según (Padilla, R. 2018) *agrobacterium* es un género bacteriano compuesto de numerosas especies de *agrobacterias* que viven en la tierra y en la rizosfera de plantas, cuando albergan el plásmido Ti (por Inductor de Tumor), ciertas agrobacterias pueden inducir la formación de tumores en las plantas, causando pérdidas económicas importantes en muchas plantas de interés agronómico. Estudios realizados por (Francis KE. & Spiker S. 2005) manifiestan que estas regiones poseen genes "específicos de especie" que podrían determinar la adaptación a nichos ecológicos particulares donde las *agrobacterias* escaparían a la competición intra especie.

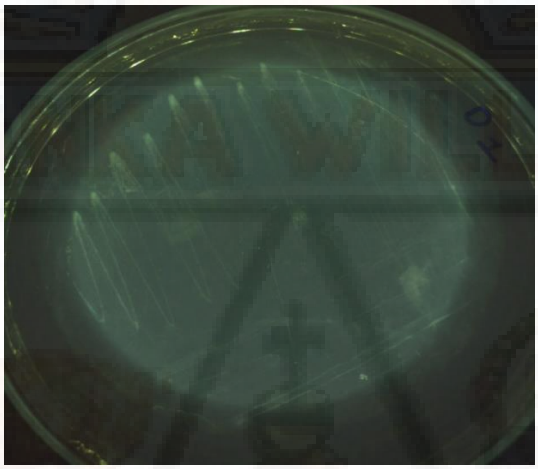


Ilustración 8. *Agrobacterium fabrum.*

Enterobacter cloacae. *Enterobacter* es un género de bacterias gramnegativas comunes, facultativamente anaeróbicas, con forma de bastón y que no forman esporas. La familia enterobacterias. Varias cepas de estas bacterias son patógenas y causan infecciones oportunistas en. Hospedadores inmunocomprometidos (generalmente hospitalizados) (Narendra k. 2000). Según (Kittiy, A. 2015) el aumento de su frecuencia causa alarma porque matan a hasta la mitad de las personas que las contraen.

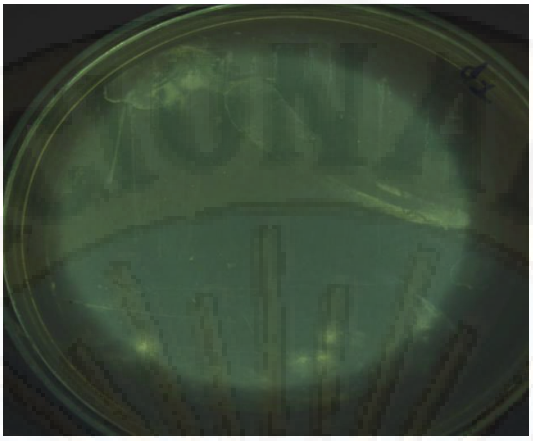


Ilustración 9. *Enterobacter cloacae*

Curtobacterium plantarum. Son células grampositivas, no ácidas, no formadoras de endosporas, varillas móviles (0,3 a 0,5 por 0,6 a 3,0 p.m.). Colonias en el agar nutritivo de extracto de levadura es amarillo, circular, convexo, brillante y butiroso con márgenes enteros (diámetro, 4 a 16 mm), todas las cepas son obligatorias de los aerobios. Crecimiento optimo ocurre entre 28 y 30 ° C. Todas las cepas producen ácido a partir de fermentación oxidativa de xilosa, ramnosa, glucosa, fructosa, manosa, galactosa, maltosa e inositol; el ácido no es producido a partir de sorbosa, sacarosa, lactosa, trehalosa, celobiosa, rafinosa, glicerol, eritritol o sorbitol. Se asimilan los ácidos acético, pirúvico, láctico, succínico, α-cetoglutárico, propiónico, glicólico, glioxílico y glucónico. Indoxilacetato y la gelatina se hidroliza, pero la caseína y el hipurato no se hidrolizan. Se producen arilamidasa del ácido piroglutámico, fosfatasa, N-acetilglucosaminidasa, ADNasa y p-caroteno; ureasa no se produce. El crecimiento se produce en presencia del 10% cloruro de sodio, y las células de todas las cepas son susceptibles a infección por el bacteriófago PBY-3. (Komagata, K. & K. Suzuki. 2000)

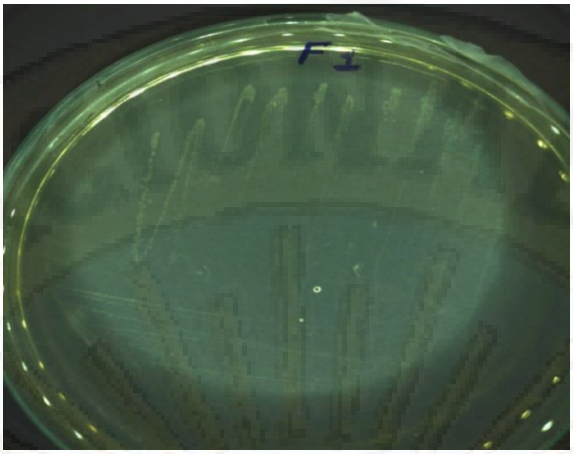


Ilustración 10. *Curtobacterium plantarum*

Stenotrophomonas tumulicola. *Stenotrophomonas* es un género de bacterias gramnegativas. Con especies que van desde organismos de suelo común (*S. nitritireducens*) a patógenos humanos oportunistas (*S. maltophilia*), la taxonomía molecular del género es todavía algo confuso, bajo investigación (Hauben, L. 1999).

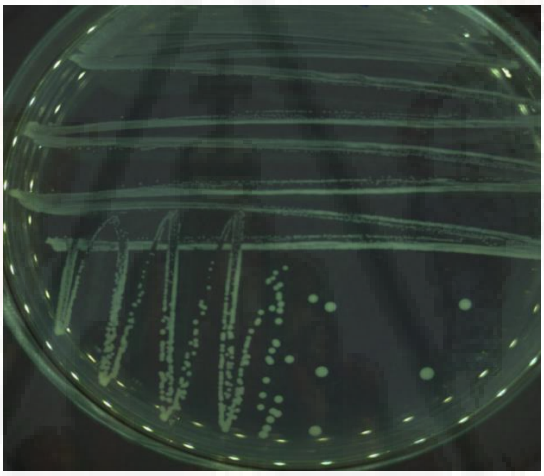


Ilustración 11. *Stenotrophomonas tumulicola*

Paenibacillus peoriae. Especies de *Paenibacillus* son de naturaleza ubicua, son capaces de formar esporas resistentes y producir varias enzimas hidrolíticas, incluidas las proteasas. Sin embargo, solo se dispone de pocos datos sobre la producción de estas enzimas. Las proteasas producidas por las cepas de *Paenibacillus* pueden representar nuevas

fuentes para el uso biotecnológico. (Padda k. *et. al* 2017)

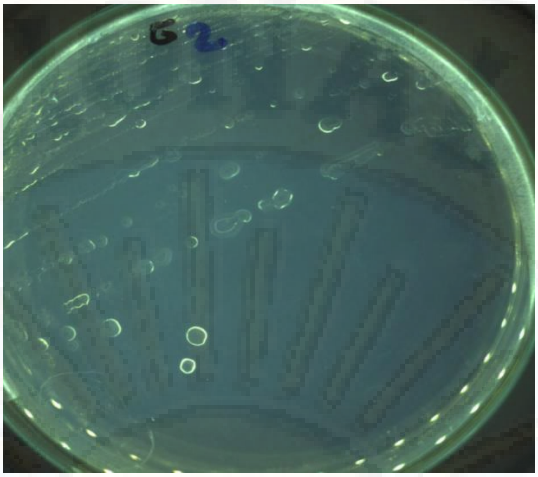


Ilustración 12. *Paenibacillus peoriae*.

Stenotrophomonas maltophilia. Es un bacilo de distribución universal que se ha aislado en el suelo, el agua, los vegetales y los animales, así como en diferentes ambientes hospitalarios (agua de grifos, humidificadores, jabones y desinfectantes, catéteres, etc.), incluidas las manos del personal sanitario. Tan extendida distribución ambiental estaría en relación con la amplia diversidad genética que presentan los aislados clínicos, incluso en las cepas detectadas en un mismo centro durante un período concreto (Valdezate, S. 2004). No son bien conocidos los mecanismos de virulencia de S. maltophilia, aunque recientemente se ha relacionado su patogenicidad con la expresión de determinados factores (hemolisina, elastasa y disminución de la estimulación de neutrófilos), de forma similar a como ocurre en otros bacilos no fermentadores (Apisarnthanarak, A. *et al.*, 2003).

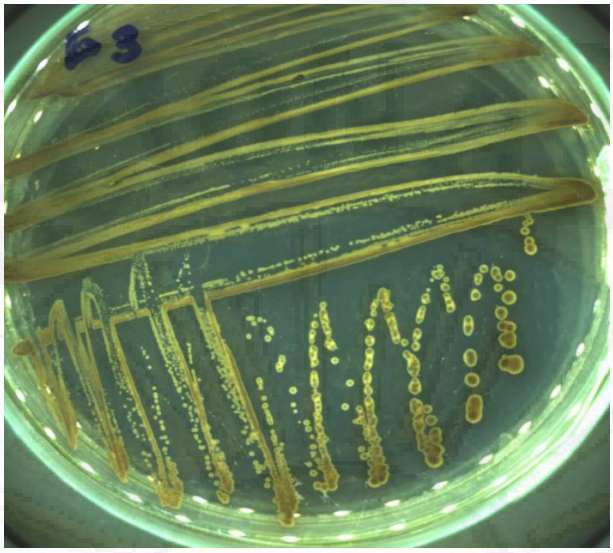


Ilustración 13. *Stenotrophomonas maltophilia*

4.2.2. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo no rizosférico fértil

Arthrobacter nitroguajacolicus *Arthrobacter* es un género de bacterias que se encuentra comúnmente en el suelo. Todas las especies de este género son grampositivas obligadas. Aerobios que son varillas durante el crecimiento exponencial y cocos en su fase estacionaria (Kotouckova, L. 2004). Este microbio se encontró en una pantalla para detectar organismos que podrían degradarse. Compuestos en suelo contaminado. Las enzimas de este microbio pueden ser útiles para degradar el exceso de residuos de pesticidas en el suelo *(*George M. & Garrity 2012), según *(*Pflieger, M. & Kroflič, A. 2017). *Arthrobacter nitroguajacolicus* tiene la capacidad de degradar 4-nitroguaiacol que es un importante contaminante atmosférico, es el componente principal de la lignina de madera y se emite esencialmente a la atmósfera durante la quema de biomasa

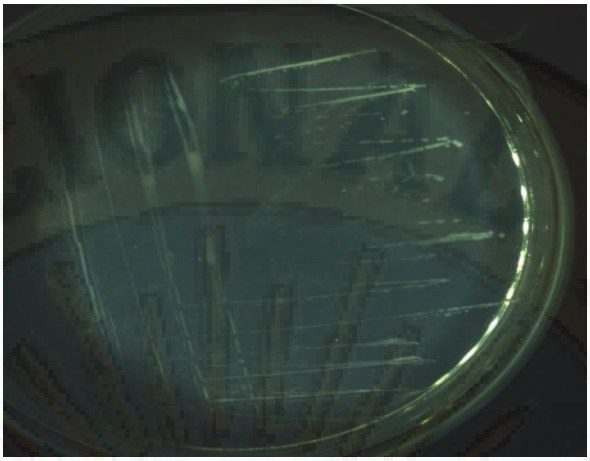


Ilustración 14. *Arthrobacter nitroguajacolicus*

Bacillus atrophaeus. *Bacillus atrophaeus* es una bacteria grampositiva, aerobia, formadora de endosporas, con forma de bastoncillo, cuya descripción es prácticamente idéntica a la de *Bacillus subtilis*, excepto por la producción de un pigmento en medios que contienen una fuente de nitrógeno orgánico (Nakamura, L**.**1989) La diferenciación entre especies del género Bacillus se centro en los resultados en la fermentación de lactosa, sorbitol, manitol, melobiosis, hidrólisis de la urea, y descarboxilacion de la lisina.(Anderson *et al.*,2003).

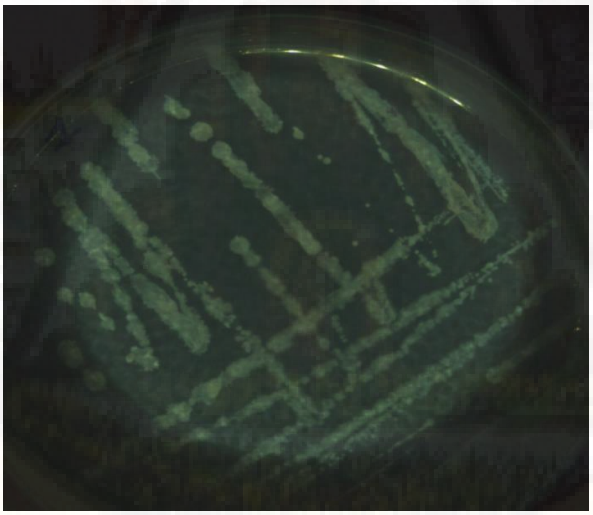


Ilustración 15. *Bacillus atrophaeus*

Erwinia rhapontici. Es un patógenos emergentes, el patógeno es una bacteria gramnegativa que ha sido reportada del suelo, semillas y diferentes tejidos de plantas, causando semillas rosadas, generalmente causa podredumbre de la corona, podredumbre de tallos y tallos, podredumbre de las flores o podredumbre blanda en más de 20 huéspedes de plantas, incluido el guisante (Huang *et al*. 2003). La enfermedad fue reportada por primera vez en el guisante en los Estados Unidos Montana en 2002) y más tarde fue encontrada en Dakota del Norte en 2006. (Wise *et al*. 2008). *Erwinia rhapontici* pertenece a la carotovora. Sub grupo de erwinia. A diferencia de muchos miembros de la podredumbre blanda. Subgrupo de carotovora que produce enzima pectolítica, *E. rhapontici* no degrada el pectate.

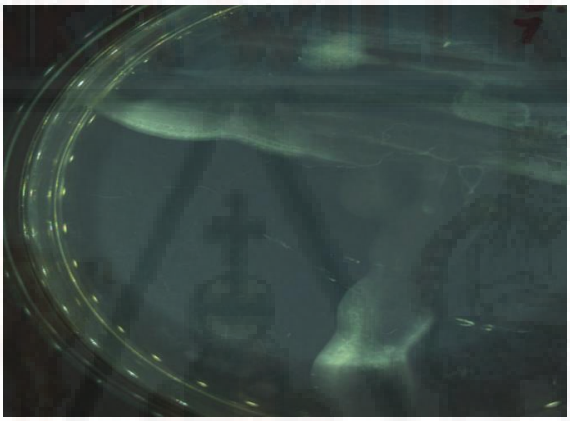


Ilustración 16. *Erwinia rhapontici.*

Rahnella aquatilis. Es una bacteria gramnegativa en forma de bastoncillo relativamente rara que se ha encontrado en agua dulce, suelo, en el agua fresca, en reservorios de agua, en el suelo y en caracoles; en los humanos es patógena y puede causar infección renal y respiratoria (Tash, 2005).

Matsukura, H. *et al.*, 2008 Manifista que un caso se presentó en una infección urinaria de una niña de 4 años de edad, la cual ingresó al Servicio de Emergencias del Hospital Nacional de Niños con una orina francamente alterada. Por punción vesical se recolectó una muestra que

fue inoculada en agar sangre y agar McConkey; luego del periodo de incubación, creció un bacilo Gram negativo que fue identificado como *Rahnella aquatilis* siempre empleando el sistema automatizado Vitek.

Ilustración 17. *Rahnella aquatilis.*

Serratia grimesii. *Serratia* es un género de bacterias gramnegativas, facultativamente anaeróbicas, en forma de bastón de la familia Enterobacteriaceae. La especie más común en el género, *S. marcescens*, es normalmente el único patógeno y generalmente causa nosocomial, infecciones, Sin embargo, las cepas raras de *S. plymuthica, S. liquefaciens, S. rubidaea y S. odoriferae* han causado enfermedades a través de la infección. Los miembros de este género producen pigmento rojo característico, prodigiosina y pueden distinguirse de otros miembros de la familia Enterobacteriaceae por su producción única de tres enzimas: ADNasa, lipasa y gelatinasa. (Basilio, J. & Anía, M. 2007)

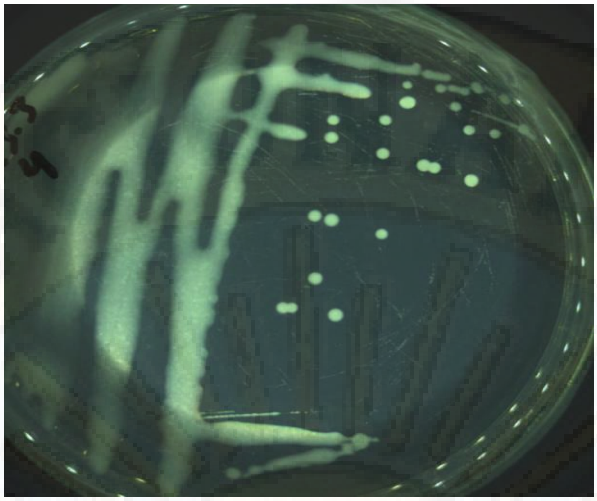


Ilustración 18. *Serratia grimesii*.

Rhodococcus jialingiae. Bacteria positiva para tinción de Gram, aeróbica, no móvil, no formadora de esporas, no ácida, que muestra ramificación elemental, patógena ambiental encontrada en agua, aire y tierra. Las colonias en placas LB son opacas, ligeramente rosadas, húmedas, lisas y convexas con un color regular. El crecimiento se produce a 4–35 ℃ y pH 4.0–9.0. El NaCl es tolerado hasta en un 7%. Negativo para la oxidasa, producción del H2S y el indol, la licuefacción de gelatina, la hidrólisis del almidón, la reducción de nitrato y la prueba de rojo de metilo, mientras que son positivos para La catalasa, la prueba de Voges-Proskauer y la producción de ureasa (Wang, Z. *et al* 2010)

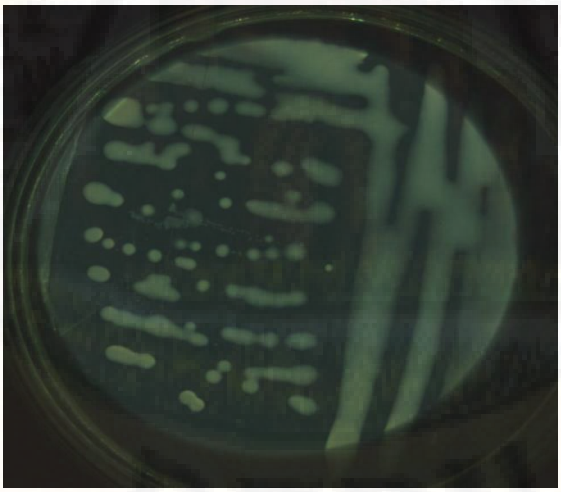


Ilustración 19. *Rhodococcus jialingiae*.

Acinetobacter johnsonii. Según (Montaña S. 2016). *Acinetobacter johnsonii* rara vez causa infecciones en humanos, aunque la mayoría de los aislamientos de *A. johnsonii* son susceptibles a casi todos los antibióticos, recientemente se han descrito cepas que albergan una variedad de lactamasas β. Una cepa clínica de *A. johnsonii* recuperada de un hospital en Buenos Aires produce PER-2 y OXA-58. En los últimos años, el aumento de bacterias resistentes a los antibióticos ha planteado una seria amenaza para la salud humana. Las recuperaciones de especies no reconocidas previamente como una amenaza en el entorno hospitalario han sido ampliamente reportadas (Chusri. S, 2014).

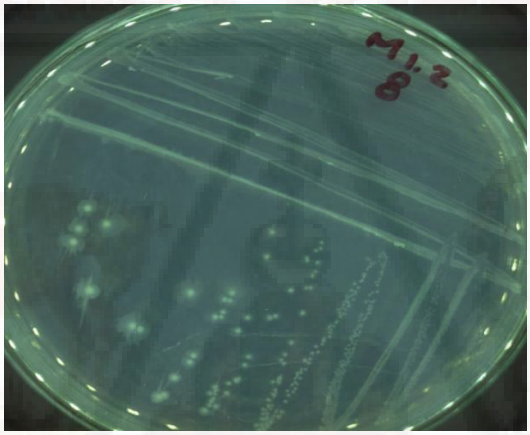


Ilustración 20. *Acinetobacter johnsonii.*

Bacillus zhangzhouensis. Bacillus es un género de bacterias grampositivas, con forma de bastoncillo (bacillus) y un miembro del filo Firmicutes. Las especies de Bacillus pueden ser aerobios obligados (que dependen del oxígeno) o anaerobios facultativos (que tienen la capacidad de ser aeróbicos o anaeróbicos), en la actualidad se encuentra bajo investigación (Kumar, D. *et al* 2014)

Ilustración 21. *Bacillus zhangzhouensis.*

Plantibacter flavus. Las células son grampositivas, Barras estrictamente aeróbicas, no formadoras de esporas, no móviles, de forma irregular las colonias son amarillas, brillantes, ligeramente convexas y redondas con márgenes enteros. (Behrendt, U. *et al*., 2002)

Plantibacter flavus es una bacteria del género *Plantibacter* que se ha aislado de la filósfera de hierba de Paulinenaue en Alemania. Las cepas se aislaron de la filósfera de las gramíneas y de la capa de hojarasca después de cubrir el césped (Behrendt, U. *et al*., 2002)

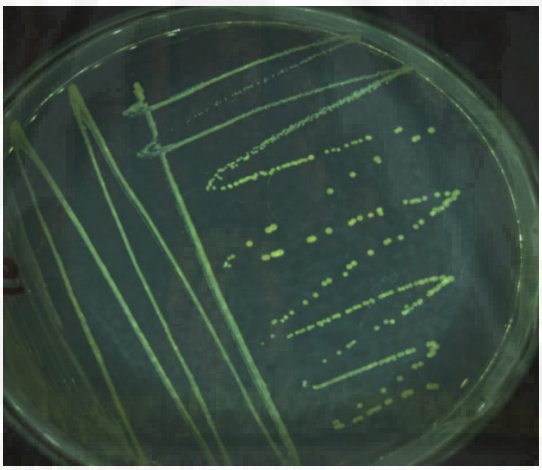


Ilustración 22. *Plantibacter flavus.*

Janibacter limosus. *Janibacter* es un género de bacterias Gram positivas, no móviles, que no forman esporas. El nombre género se deriva del Dios romano Janus dedos caras, refiriéndose al hecho de que las células de la cepa original podrían tener forma de varilla o de coco. La especie tipo del género, *Janibacter limosus*, se aisló originalmente de los lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales. Otras especies se han aislado de una muestra de aire, un melón, el intestino medio de mosquitos, el coral, los sedimentos marinos y los sedimentos hidrotermales (Matin, K. 1999).

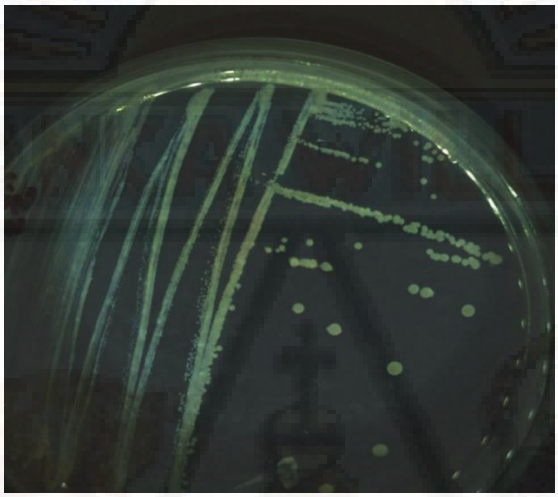


Ilustración 23. *Janibacter limosus.*

Paenibacillus amylolyticus. *Paenibacillus* es un género de bacterias anaerobias facultativas que forman endosporas, originalmente incluidas dentro del género. *Bacillus* y luego se reclasificó como un género separado en 1993. Ha habido un interés cada vez mayor en Paenibacillus sp ya que muchos demostraron ser importantes para la agricultura y la horticultura, industrial (por ejemplo, *P. amylolyticus*), y aplicaciones médicas (por ejemplo, P. peoriate). Estas bacterias producen diversas enzimas extracelulares tales como. Enzimas y proteasas que degradan el polisacárido, que pueden catalizar una amplia variedad de reacciones sintéticas en campos. Desde la cosmética hasta la producción de biocombustibles (Padda k. *et. al* 2017).

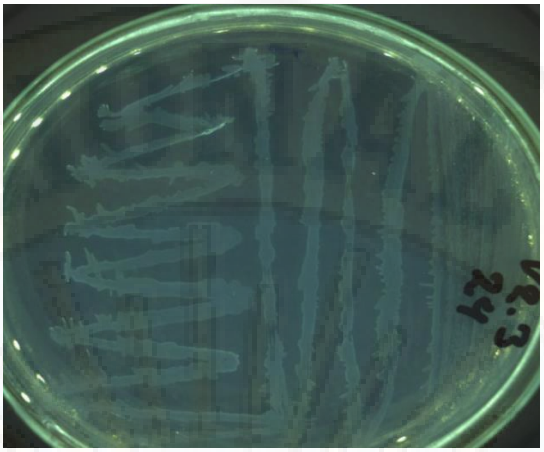


Ilustración 24. *Paenibacillus amylolyticus.*

Paenibacillus chibensis Ha habido un interés cada vez mayor en Paenibacillus sp. ya que muchos demostraron ser importantes para la agricultura y la horticultura (por ejemplo, *P. polymyxa*), industrial (por ejemplo, *P. amylolyticus*), y aplicaciones médicas (por ejemplo, *P. peoriate*). Estas bacterias producen diversas enzimas extracelulares tales como Enzimas y proteasas que degradan el polisacárido, que pueden catalizar una amplia variedad de reacciones sintéticas en la producción de biocombustibles (Padda k. *et. al* 2017).

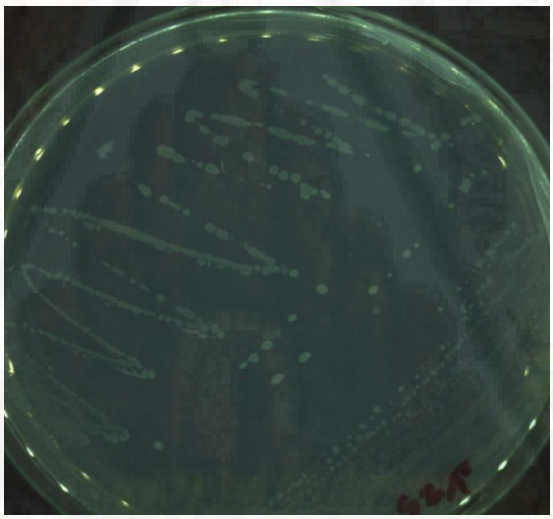


Ilustración 25. *Paenibacillus chibensis.*

Arthrobacter oxydans Arthrobacter es un género de bacterias que se encuentra comúnmente en el suelo. Todas las especies de este género son grampositivas obligadas. Aerobios que son varillas durante el crecimiento exponencial y cocos en su fase estacionaria (Sakurai, H. 2014).

(Fuller, SJ. & Wiley, JS. 2013) menciona que *Arthrobacter oxydans* ha sido reportado por que produce coproporfirina III y uroporfirina III que son químicos naturales en el cuerpo que ayudan a formar muchas sustancias importantes en el cuerpo una de estas sustancias es la hemoglobina, la proteína en los glóbulos rojos que transporta el oxígeno en la sangre. Las porfirinas se pueden medir en la orina o la sangre. Se ha informado que *Arthrobacter oxydans* crece en la nicotina (O'Loughlin, E & Sims G. 1999).

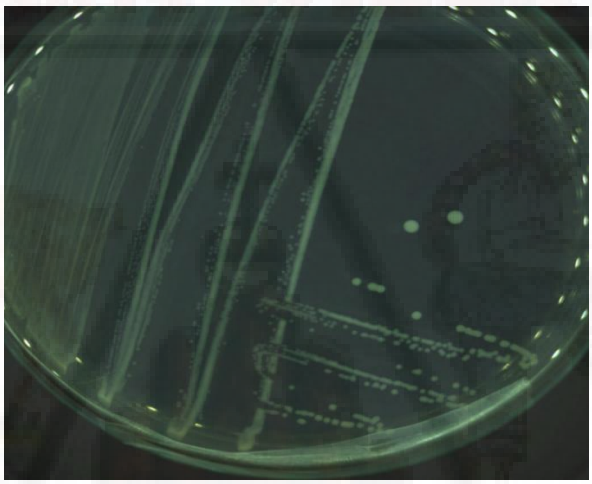


Ilustración 26. *Arthrobacter oxydans*

Pseudomonas moraviensis. Bajo investigación

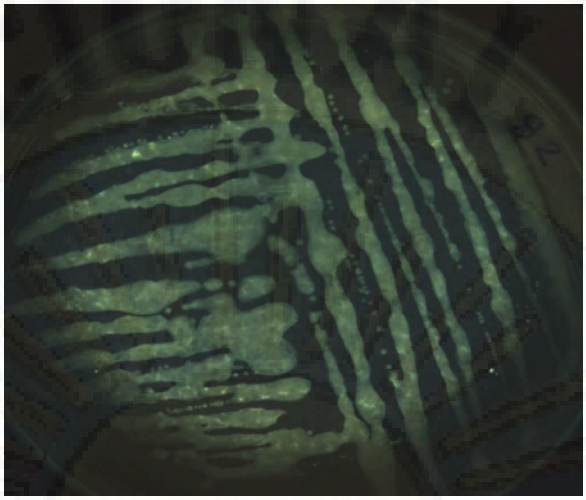


Ilustración 27. *Pseudomonas moraviensis.*

Phyllobacterium ifriqiyense. En investigación

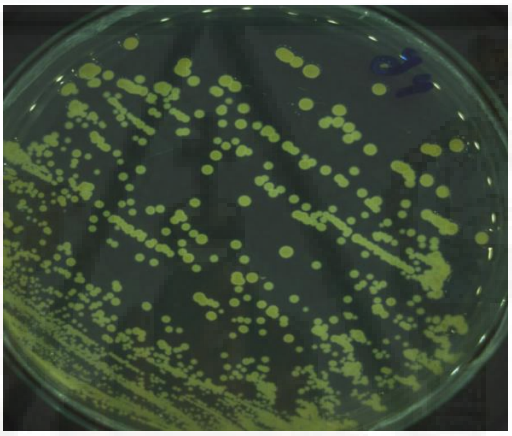


Ilustración 28. *Phyllobacterium ifriqiyense*.

Arthrobacter globiformis *Arthrobacter globiformis* es una de las bacterias del suelo más comunes y ubicuas especies conocidas. *A. globiformis* está en la Orden *Actinomycetales* y Familia *Arthrobacteriaceae* la nomenclatura original dada al género *Arthrobacter* fue *Bacterium gloviforme* (Conn, 1928). Arthrobacter y otras bacterias corineformes se sabe que los aislados utilizan y degradan una gran variedad de productos químicos orgánicos herbicidas tales como fenoles clorados y carbamatos (Hayatsu *et al.*, 1999).

Sin embargo, una específica la cepa de *Arthrobacter globiformis* se ha ilustrado para degradar parcialmente herbicidas de fenilurea sustituida en los que no había un registro actual de un organismo tener tales capacidades en el momento actual, los herbicidas incluyen diurón, isoproturón, cloroturón, linurón, monolinurón y monurón son solo algunos ejemplos de los herbicidas que se han ilustrado para ser degradados por *A. globiformis* D47 (Turnbull *et al.*, 2001).

Ilustración 29. *Arthrobacter globiformis.*

Pseudomonas kilonensis. *Pseudomonas kilonensis* es una bacteria de suelo gramnegativa aislada de suelo agrícola en Alemania, la variedad es de tipo DSM 13647 en la actualidad se encuentra bajo investigación (Tvrzová *et al.* 2006).

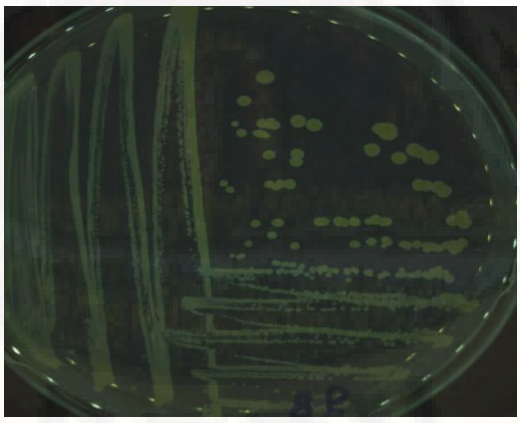


Ilustración 30. *Pseudomonas kilonensis.*

Bacillus altitudinis La especie *Bacillus altitudinis* se informó por primera vez a partir de una muestra de aire recogida a 41 km en la estratosfera (Shivaji S. *et al*., 2006). Informes adicionales revelaron su presencia en otros hábitats, como suelo, limo, peces (Esakkiraj, P. & Usha, R. 2012) y rizósfera de plantas (Sunar, K. *et al.,* 2013).

(Urmi, H. 2017*)* manifiesta que, además, la minería genómica de los genes responsables de la resistencia a la radiación ultravioleta de *B. altitudinis* ayudará a desarrollar una mejor comprensión de las bacterias estratosféricas y sus adaptaciones en entornos con estrés extremo por radiación ultravioleta.

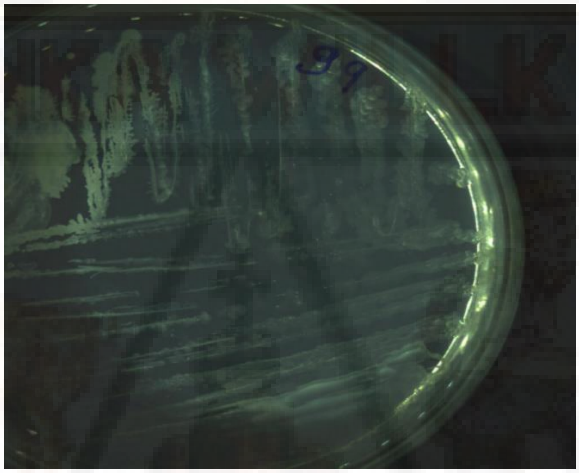


Ilustración 31. *Bacillus altitudinis.*

Variovorax boronicumulans. Bajo investigación

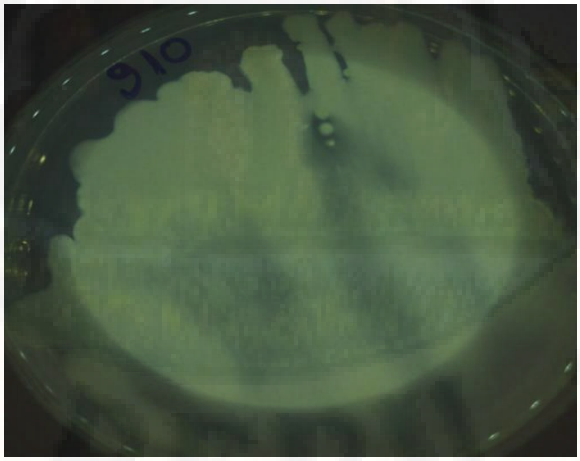


Ilustración 32. *Variovorax boronicumulans*

4.2.3. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo rizosférico degradado.

Enterobacter aerogenes. Enterobacter es un género de bacterias gramnegativas comunes, facultativamente anaeróbicas, con forma de bastón y que no forman esporas. La familia enterobacterias. Varias cepas de estas bacterias son patógenas y causan infecciones oportunistas en Hospedadores inmunocomprometidos (generalmente hospitalizados). (Sanders, W.E. & Sanders C.C. 1997)

Las vías urinarias y respiratorias son los sitios más comunes de infección *Enterobacter aerogenes* es gramnegativo, oxidasa negativa, catalasa positiva, citrato positivo, indol negativo, en forma de barra, la bacteria tiene una longitud aproximada de 1 a 3 micrones, y es capaz de moverse a través de peritrichous flagelos. *E. aerogenes* es una bacteria nosocomial y patógena que causa infecciones oportunistas, incluida la mayoría (Sanders, W.E. & Sanders C.C. 1997). *E. aerogenes* se adquiere en unidades de cuidados intensivos de tres formas diferentes: diseminación paciente a paciente de una cepa prevalente o relacionada con la epidemiología, adquisición de novo de una cepa de la propia flora de los pacientes y adquisición de una cepa no endémica seguido de una transmisión ocasional de paciente a paciente. (Davin, A. *et al.,* 2018)

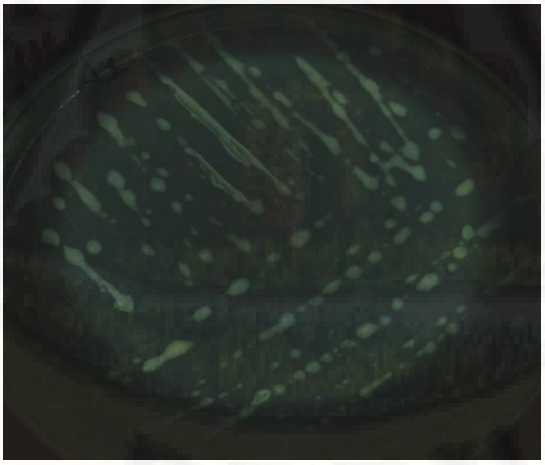


Ilustración 33. *Enterobacter aerogenes.*

Tsukamurella pseudospumae. Es una bacteria del género de *Tsukamurella* que ha sido aislado a partir de lodos activados de espuma a partir de una planta de tratamiento de lodos activados en Inglaterra en la actualidad se encuentra en investigación (Nam, S. 2004).

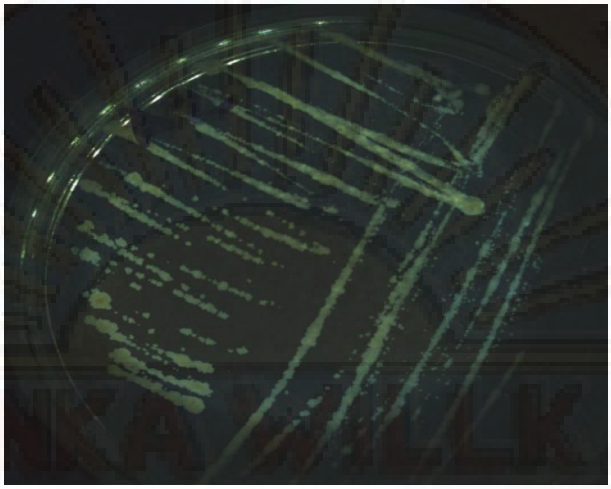


Ilustración 34. *Tsukamurella pseudospumae*

Rhodococcus corynebacterioides. Son importantes debido a su capacidad de catabolizar una amplia gama de compuestos y producir esteroides bioactivos, acrilamida y ácido acrílico y su participación en la biodesulfuración de combustibles fósiles. Esta diversidad genética y catabólica no sólo se debe al gran cromosoma bacteriano, sino también a la presencia de tres grandes plásmidos lineales (McLeod, M. *et al.*, 2006). Rhodococcus es también un sistema experimentalmente ventajoso debido a una velocidad de crecimiento relativamente rápida y un ciclo de desarrollo simple, pero no está bien caracterizado. Otra aplicación importante de *Rhodococcus* proviene de la bioconversión, utilizando sistemas biológicos para convertir el material de partida barato en compuestos más valiosos, como su capacidad para metabolizar contaminantes ambientales nocivos, incluyendo tolueno, naftaleno, herbicidas y PCB (McLeod, M. *et al.*, 2006).

Por otro lado, se ha investigado en gran medida como un agente potencial para la biorremediación de contaminantes, ya que se encuentra comúnmente en el ambiente natural, y posee ciertas características que les permiten prosperar en una variedad de condiciones, y tienen la capacidad de metabolizar muchos hidrocarburos (Alvarez, H. 2010). Los *rhodococos* poseen muchas propiedades que los hacen adecuados para la biorremediación en diversos entornos. Su capacidad para someterse a la respiración microaerofílica les permite sobrevivir en entornos que contienen bajas concentraciones de oxígeno, y su capacidad para someterse a la respiración aeróbica también les permite sobrevivir en entornos oxigenados (Fuller, Y. & Perreault, N. 2010). También se someten a una fijación de nitrógeno, lo que les permite generar sus propios nutrientes en ambientes con bajos nutrientes (Blasco, R. 2001). Los rodococos también contienen características que mejoran su capacidad para degradar contaminantes orgánicos, su superficie hidrófoba permite la adhesión a los hidrocarburos, lo que mejora su capacidad para degradar estos contaminantes (*Mendez, V. 2012).* Tienen una amplia variedad de vías catabólicas y muchas funciones enzimáticas únicas (Laczi, K. *et al.*, 2015). Esto les da la capacidad de degradar muchos hidrocarburos tóxicos recalcitrantes. Por ejemplo, los rodococos expresan dioxigenasas, que se pueden usar para degradar el benzotrifluoruro, un contaminante recalcitrante., los rodococos también son capaces de acumular iones de metales pesados, como el cesio radiactivo, lo que facilita la eliminación del medio ambiente.

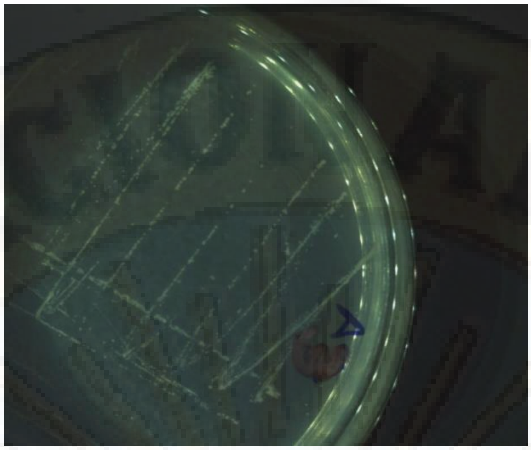


Ilustración 35. *Rhodococcus corynebacterioides.*

Arthrobacter globiformis *Arthrobacter globiformis* es una de las bacterias del suelo más comunes y ubicuas especies conocidas. *A. globiformis* está en la Orden *Actinomycetales* y Familia *Arthrobacteriaceae* la nomenclatura original dada al género Arthrobacter fue Bacterium gloviforme (Conn, 1928).

Arthrobacter y otras bacterias corineformes se sabe que los aislados utilizan y degradan una gran variedad de productos químicos orgánicos herbicidas tales como fenoles clorados y carbamatos (Hayatsu *et al.*, 1999).

Sin embargo, una específica la cepa de *Arthrobacter globiformis* se ha ilustrado para degradar parcialmente herbicidas de fenilurea sustituida en los que no había un registro actual de un organismo tener tales capacidades en el momento actual, los herbicidas incluyen diurón, isoproturón, cloroturón, linurón, monolinurón y monurón son solo algunos ejemplos de los herbicidas que se han ilustrado para ser degradados por *A. globiformis* D47 (Turnbull *et al.*, 2001).

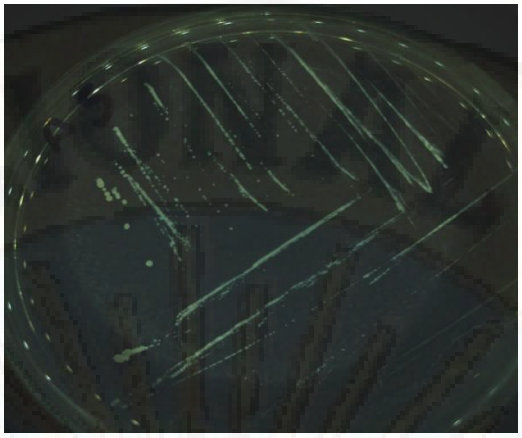


Ilustración 36. *Arthrobacter globiformis.*

Arthrobacter nitroguajacolicus. *Arthrobacter* es un género de bacterias que se encuentra comúnmente en el suelo. Todas las especies de este género son grampositivas obligadas. Aerobios que son varillas durante el crecimiento exponencial y cocos en su fase estacionaria (Kotouckova, L. 2004). Este microbio se encontró en una pantalla para detectar organismos que podrían degradarse. Compuestos en suelo contaminado. Las enzimas de este microbio pueden ser útiles para degradar el exceso de residuos de pesticidas en el suelo *(*George M. & Garrity 2012*),* según *(*Pflieger, M. & Kroflič, A. 2017). *Arthrobacter nitroguajacolicus* tiene la capacidad de degradar 4-nitroguaiacol que es un importante contaminante atmosférico, es el componente principal de la lignina de madera y se emite esencialmente a la atmósfera durante la quema de biomasa

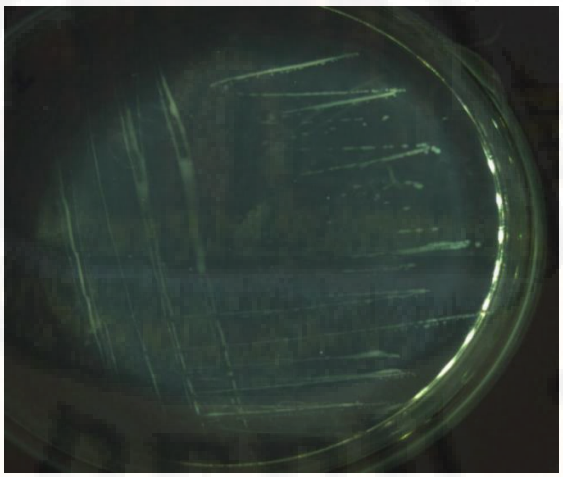


Ilustración 37. *Arthrobacter nitroguajacolicus.*

Streptomyces canus. Es una especie de bacteria del género *Streptomyces* que se ha aislado del suelo en los EE. UU. Streptomyces se encuentra predominantemente en el suelo y la vegetación en descomposición, bajo investigación (Yang, H. 2014)

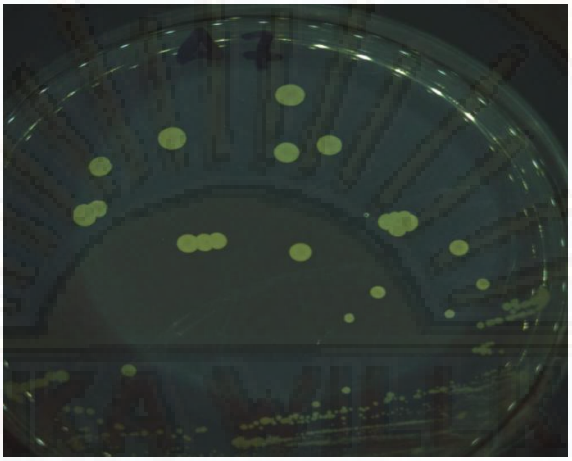


Ilustración 38. *Streptomyces canus.*

Curtobacterium flaccumfaciens *Curtobacterium flaccumfacien* es un patógeno bacteriano del marchitamiento. Los síntomas distintivos del marchitamiento bacteriano son el marchitamiento de la hoja y el pecíolo. La clorosis de la hoja y el tejido se produce debido a la falta de transporte de agua. *Curtobacterium flaccumfaciens* como especie tiene un amplio rango de hospedantes, no limitado a frijoles, soya, tulipanes y tomates. Sin embargo, la especie se separa artificialmente en un pathovar según el rango y los síntomas del huésped. (Sammer, UF. & Reiher, K. 2012). Uno de los patovares económicamente importantes es *Curtobacterium flaccumfaciens*. Este pathovar se clasifica como marchitamiento bacteriano y tiene un rango de hospedador primario del género *Phaseolus* (frijoles), pero el patógeno puede infectar a muchas otras especies de las Fabaceae (Harveson, R. *et al*., 2007). En los frijoles, los síntomas pueden ser devastadores para el rendimiento del cultivo. Estos frijoles tienen marchitamiento severo del follaje y clorosis.

Curtobacterium flaccumfaciens causa marchitamiento en poblaciones altas y se dispersa de muchas maneras. Las bacterias se multiplican relativamente rápido, lo que aumenta la posibilidad de que *Curtobacterium flaccumfaciens* pueda desprenderse de material de plantas muertas o muertas. (George, N. 2005) El patógeno normalmente se dispersa a través de prácticas agrícolas como la siembra de semillas guardadas y el equipo de la granja. En el caso de los frijoles y los tulipanes, estas prácticas mueven el propágulo durante la fase de sobrescritura de sus ciclos de vida. Esta es una dispersión efectiva para el patógeno. Infección *Curtobacterium flaccumfaciens* Generalmente entra en la planta a través de una herida. Las heridas naturales (creadas por escisión de flores o la génesis de las raíces laterales) y las heridas no naturales podrían convertirse en sitios de entrada. No hay informes de vectores, pero el nematodo *Meloidogyne incognita* puede ayudar a la entrada proporcionando heridas no naturales (*Miller; R. & Pollard, K 1976)*

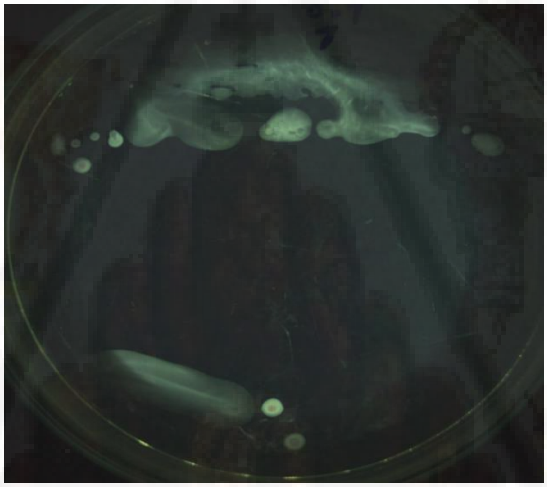


Ilustración 39. *Curtobacterium flaccumfaciens*

Ewingella americana Ewingella americana es un raro bacilo gramnegativo de la familia Enterobacteriaceae, descrito por primera vez en 19831–3. Se desconoce su significado patogénico y su reservorio no está bien definido (Pound, M. 2007). Raramente afecta a humanos (Bibashi, E. 1999), aunque se han descrito casos de conjuntivitis,

peritonitis, bacteriemia y neumonía (Hassan, S. 2012), ninguno de ellos en niños. En nuestro conocimiento, este es el primer caso publicado de sepsis por *Ewingella americana* en un paciente pediátrico. *E. americana* tiene un bajo potencial patogénico y es excepcional la infección en humanos (Bibashi, E. 1999). Se ha aislado en esputo, conjuntiva, sangre, heridas y líquido peritoneal (Da Costa, P. 2000) No obstante, el significado clínico de su aislamiento no está muy claro debido a los pocos casos reportados. Los pacientes más susceptibles son aquellos inmunodeprimidos, como el que reportamos, aunque también se han descrito casos en humanos sanos (Hassan, S. 2012).

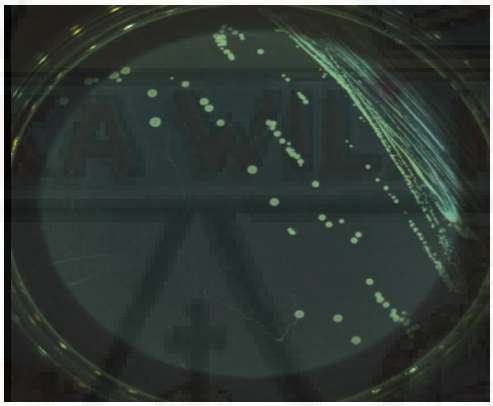


Ilustración 40. *Ewingella americana*

Pseudomonas putida. Es una bacteria gram negativa flagelada, con forma de varilla que se encuentra en la mayoría de los hábitats de suelo y agua donde hay oxigeno Se encontraron varios casos donde Pseudomonas putida fue apodada patógena. En un caso, *Pseudomonas putida* se recuperó de diez pacientes con sinusitis crónica. La bacteria fue encontrada en el oído, nariz. y la garganta. Una investigación adicional encontró a Pseudomonas putida en un producto comercial antiniebla y también en StaKleer

La Pseudomona putida también es un saprofito del suelo, oportunista, cosmopolita, metabólicamente versatil, por poseer una dioxigenasa inicial, un tolueno dioxigenasa, aunque no presenta la dioxigenasa específica para los PAHs por lo cu·l es una buena candidata para las

aplicaciones biotecnológicas, tales como agricultura, biocat·lisis, biorremediación, biocontrol en protección de las plantas y producción de bioplasticos Daane, L. & Harjono, I. 2001. La P. putida posee la capacidad de colonizar la rizosfera de plantas de cosecha y una gran capacidad metabólica que facilita el desarrollo de biopesticidas y promotores de crecimiento de la planta. La degradación de los alcanos por Pseudomona putida se ha estudiado por secuenciación en el plasmido OCT que codifica una enzima dioxigenasa que convierte alcanos a aldehÌdos a través del hidroperoxidasa sin un intermediario del alcohol, conocido como la vía de Finnerty; un proceso similar lo presentan los géneros Acinetobacter sp y Nocardiodes sp aun que ellos no poseen este plasmido (Rojas, N. & MartÌnez, J. 2003).

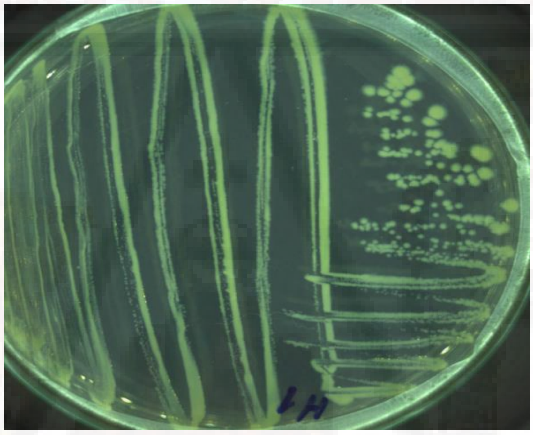


Ilustración 41. *Pseudomonas putida.*

Pseudomonas extremaustralis En investigación.

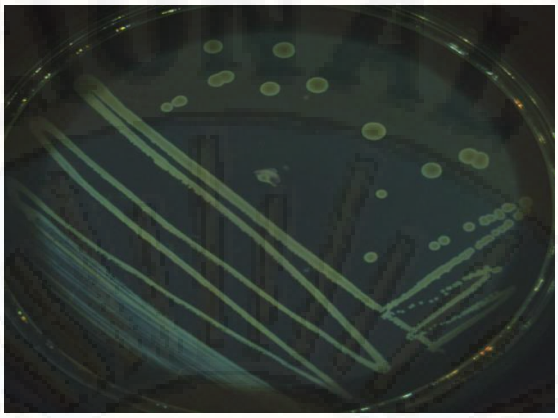


Ilustración 42. *Pseudomonas extremaustralis*.

Plantibacter flavus Las células son grampositivas, barras estrictamente aeróbicas, no formadoras de esporas, no móviles, de forma irregular las colonias son amarillas, brillantes, ligeramente convexas y redondas con márgenes enteros. (Behrendt, U. *et al*., 2002).

Plantibacter flavus es una bacteria del género *Plantibacter* que se ha aislado de la filósfera de hierba de *Paulinenaue* en Alemania. Las cepas se aislaron de la filósfera de las gramíneas y de la capa de hojarasca después de cubrir el césped (Behrendt, U. *et al*., 2002).

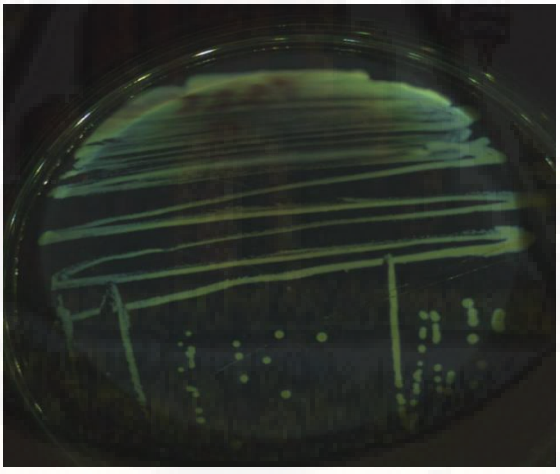


Ilustración 43. *Plantibacter flavus*

Pantoea agglomerans *Pantoea* es un género de bacterias gramnegativas de la familia *Enterobacteriaceae*, recientemente separadas de la Género *enterobacter*. Este género incluye al menos 20 especies. *Pantoea agglomerans* es una bacteria gramnegativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. *P. agglomerans* puede Se encuentran en todo el entorno de una abeja. Se ha informado ocasionalmente que *Pantoea agglomerans* es una oportunidad Patógeno en pacientes inmunocomprometidos, causando infecciones en heridas, sangre y tracto urinario. Las infecciones son típicamente Se adquiere a partir de partes de vegetación infectadas que penetran en la piel. Los líquidos o productos sanguíneos intravenosos contaminados son sólo raramente el agente causal. La infección del torrente sanguíneo puede provocar una enfermedad diseminada y una infección de órganos terminales Wang, S. *et al.*, 2012.

La bacteria de aparición espontánea rara vez ha sido informada, especialmente para los niños, y el papel de *P. agglomerans* como patógeno en otras circunstancias no está claro (Cruz, A. 2007).

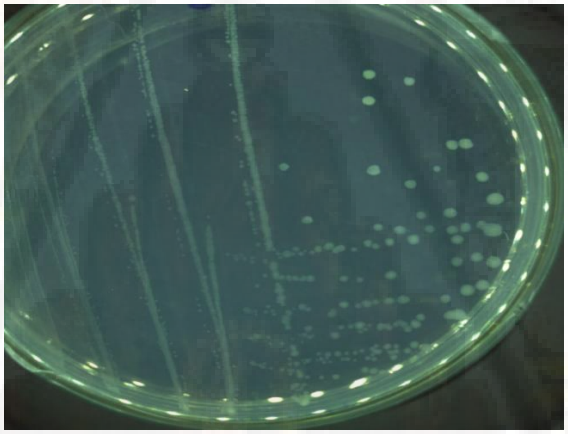


Ilustración 44. *Pantoea agglomerans.*

Staphylococcus succinus. *Staphylococcus succinus* es una bacteria coccoide grampositiva que pertenece al género *Staphylococcus*. Las células son grampositivas, esféricas (diámetro 0.6–1.9 μm) y forman rosetones característicos con una célula central rodeada de dos a cinco

células periféricas. Esta especie se ha aislado del material clínico humano, pero su papel en la patogénesis aún no se ha desarrollado (Corbiere, M. 2006)

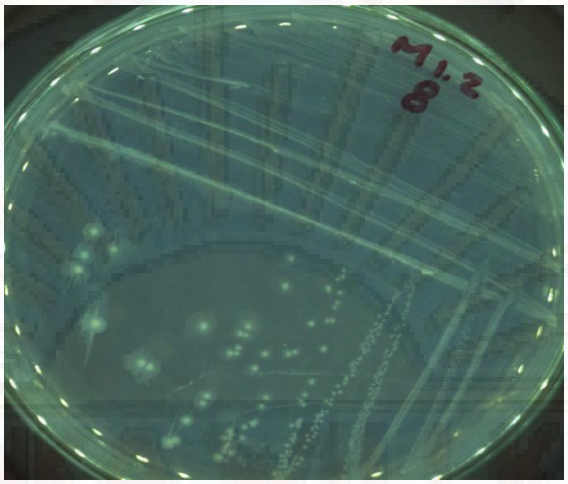


Ilustración 45. *Staphylococcus succinus.*

Bacillus siamensis El uso de bacterias probióticas como método alternativo para la prevención de enfermedades bacterianas, y el crecimiento mejora, la acuicultura ha ganado interés (Newaj- Fyzul *et al.,* 2014). Se considera actividad antimicrobiana y uno de los principales mecanismos a través del cual los probióticos funcionan y, en consecuencia, es también uno de los principios de los criterios para la selección de la cepa (Dobson *et al.,* 2012).

Este estudio revela que *Bacillus siamensis* cepa B44v y *Bacillus sp*. Tensión B51f, derivado de alimentos fermentados autóctonos, se muestraActividad fuertemente antagonista contra los peces bacterianos patógenos, *A. hydrophila* y *S. agalactiae* .Ambas cepasde bacilo efectivamente inhibido Gram-positivo y Gram-bacterias negativas, indicando su amplio espectro comopropiedad antagónica útil como las dos bases más llamativaspatógenos de peces terrestres en acuicultura en Tailandia pertenecen alos géneros *Aeromonas* y *Streptococcus* (Maisak *et al.,* 2013).

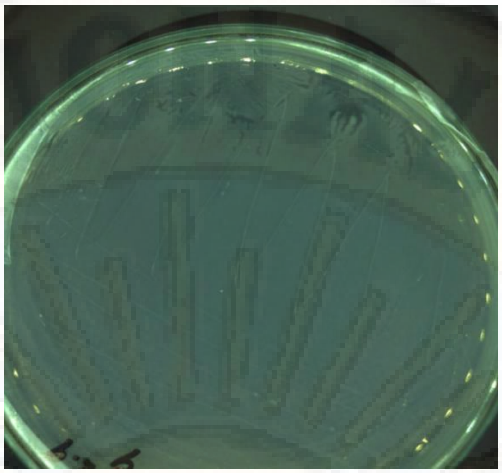


Ilustración 46. *Bacillus siamensis*

Pseudomonas putida. *Pseudomonas putida* es una bacteria gram negativa flagelada, con forma de varilla que se encuentra en la mayoría de los hábitats de suelo y agua donde hay oxigeno Se encontraron varios casos donde *Pseudomonas putida* fue apodada patógena. En un caso, Pseudomonas putida se recuperó de diez pacientes con sinusitis crónica. La bacteria fue encontrada en el oído, nariz. y la garganta. Una investigación adicional encontró a *Pseudomonas putida* en un producto comercial antiniebla y también en StaKleer

La *Pseudomona putida* también es un saprofito del suelo, oportunista, cosmopolita, metabólicamente versatil, por poseer una dioxigenasa inicial, un tolueno dioxigenasa, aunque no presenta la dioxigenasa específica para los PAHs por lo cu·l es una buena candidata para las aplicaciones biotecnológicas, tales como agricultura, biocat·lisis, biorremediación, biocontrol en protección de las plantas y producción de bioplasticos (Daane, L. & Harjono, I. 2001). La *P. putida* posee la capacidad de colonizar la rizosfera de plantas de cosecha y una gran capacidad metabólica que facilita el desarrollo de biopesticidas y promotores de crecimiento de la planta. La degradación de los alcanos por *Pseudomona putida* se ha estudiado por secuenciación en el plasmido OCT que codifica una enzima dioxigenasa que convierte

alcanos a aldehÌdos a través del hidroperoxidasa sin un intermediario del alcohol, conocido como la vía de Finnerty; un proceso similar lo presentan los géneros Acinetobacter sp y Nocardiodes sp aun que ellos no poseen este plasmido (Rojas, N. & MartÌnez, J. 2003).

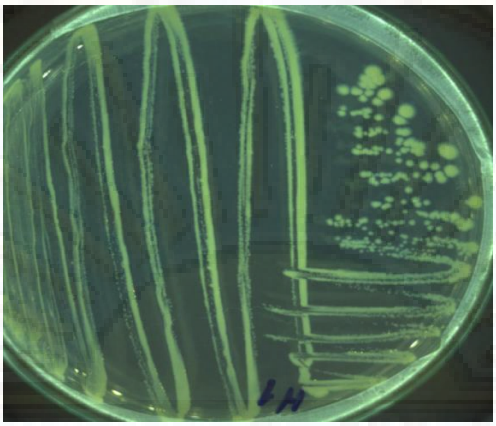


Ilustración 47. *Pseudomonas putida.*

Pseudomonas kilonensis. *Pseudomonas kilonensis* es una bacteria de suelo gramnegativa aislada de suelo agrícola en Alemania, la variedad es de tipo DSM 13647 en la actualidad se encuentra bajo investigación (Tvrzová *et al.*,2006).

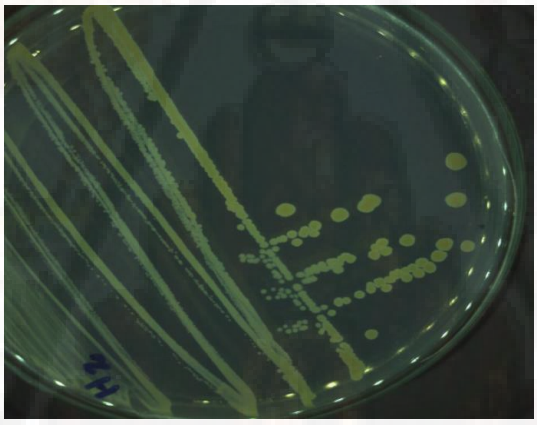


Ilustración 48. *Pseudomonas kilonensis.*

Agrobacterium tumefaciens. Gelvin, S. 2000 manifiesta que agrobacterium tumefaciens es una proteobacteria alpha, perteneciente a la familia Rhizobiaceae; aunque, al contrario que otras bacterias de esta familia, no actúa en simbiosis con las plantas como fijadora de nitrógeno, sino que las parasita, produciéndoles tumores. Por otro

lado, Según (Kunik, T. *et al*., 2001) menciona que *A. tumefaciens* se ha empleado como instrumento biotecnológico rutinario para el desarrollo de plantas transgénicas, especialmente en plantas dicotiledóneas y, en menor proporción, en monocotiledóneas. Las plantas transformadas mediante *Agrobacterium* fueron diseñadas para que expresen una característica particular, por ejemplo, resistencia a herbicidas, producción de un nuevo compuesto, mejoramiento de la productividad, etcétera.

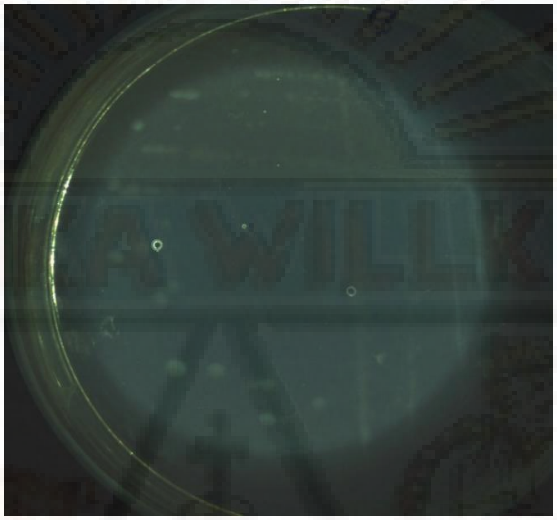


Ilustración 49. *Agrobacterium tumefaciens.*

Pseudomonas gessardii. En investigación

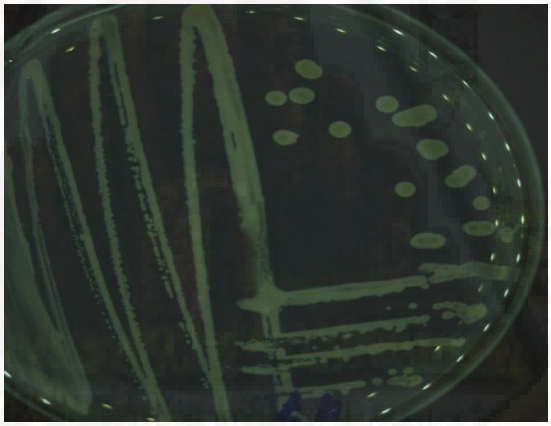


Ilustración 50. *Pseudomonas gessardii.*

4.2.4. Análisis y discusión de la diversidad bacteriana aisladas del suelo no rizosférico degradado

Arthrobacter nitroguajacolicus. *Arthrobacter* es un género de bacterias que se encuentra comúnmente en el suelo. Todas las especies de este género son grampositivas obligadas. Aerobios que son varillas durante el crecimiento exponencial y cocos en su fase estacionaria (Kotouckova, L. 2004).

Este microbio se encontró en una pantalla para detectar organismos que podrían degradarse. Compuestos en suelo contaminado. Las enzimas de este microbio pueden ser útiles para degradar el exceso de residuos de pesticidas en el suelo *(*George M. & Garrity 2012), según *(*Pflieger, M. & Kroflič, A. 2017). *Arthrobacter nitroguajacolicus* tiene la capacidad de degradar 4-nitroguaiacol que es un importante contaminante atmosférico, es el componente principal de la lignina de madera y se emite esencialmente a la atmósfera durante la quema de biomasa. Su envejecimiento en la fase acuosa troposférica conduce a la generación de los siguientes productos de transformación con retención de anillo, también durante la noche: 4-nitroguaiacol, 6-nitroguaiacol y dinitroguaiacol

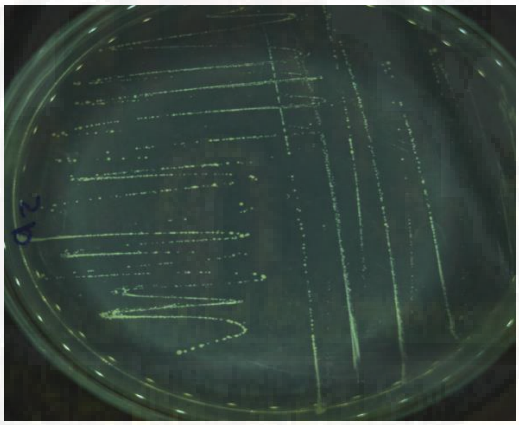


Ilustración 51. *Arthrobacter nitroguajacolicus.*

Streptomyces novaecaesareae. *Streptomyces* es el género más grande de *Actinobacteria* y el género tipo de la familia *Streptomycetaceae*. Más de 500 Se han descrito especies de bacterias *Streptomyces*. Al igual que con las otras Actinobacterias, los estreptomicetos son Grampositivos, y tienen genomas con alto contenido de GC. Se encuentra predominantemente en el suelo y la vegetación en descomposición, la mayoría Los estreptomicetos producen esporas. Bajo investigación (Madigan, M. 2005)

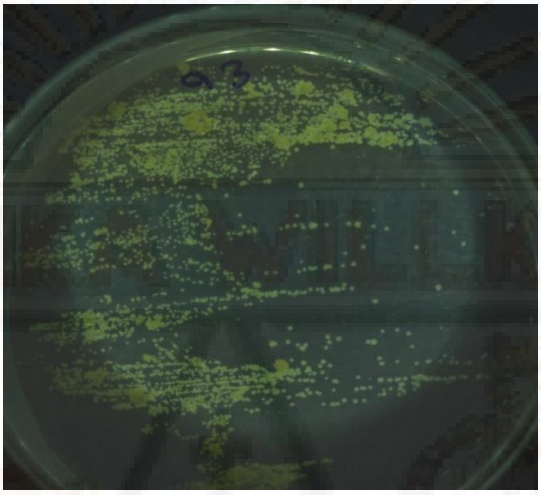


Ilustración 52. *Streptomyces novaecaesareae.*

Bacillus megaterium. *B. megaterium* presenta esporas de gran tamaño y se ubica dentro de las especies psicrófilas del género. Puede causar perjuicio a animales y humanos. Sus esporas son frecuentes en el suelo (Todar, 2005)

B. megaterium se considera un endófilo (vive como un endosimbio de las plantas sin causar daño) y es un agente potencial para el control de enfermedades de las plantas. Se ha demostrado que ciertas cepas se pueden usar para fijar nitrógeno (Vos, P.et al. 2009.)

B. megaterium ha sido una importante década de uso industrial durante décadas. Produce la enzima amidasa de penicilina utilizada para producir penicilina sintética, varias amilasas utilizadas en la industria de panadería y la deshidrogenasa de glucosa, enzima utilizada en las pruebas de glucosa en sangre. Además, se utiliza para la producción de

piruvato vitamina B12 medicamentos con propiedades fungicidas y antivirals, etc. (Variar, S. *et al*., 2007) Produce enzimas para modificar los corticosteroides y varios aminoácidos deshidrogenasas.

Segun (Shimizu, K., Nakamura, H. & Ashiuchi, M 2007) B. megaterium produce poli-γ-ácido glutámico La acumulación de polímero aumenta considerablemente en ambientes salinos (2-10% de NaCl), en los cuales el polímero está formado en gran parte por L-glutamato (el contenido del isómero L es de hasta el 95%). Al menos una cepa de *B. megaterium* puede considerarse halófilo ya que crece en concentraciones de hasta un 15% de NaCl (Khan, JA. 2011.)

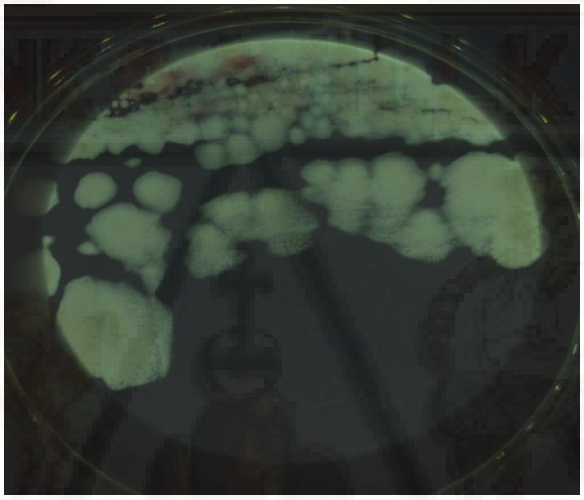


Ilustración 53. *Bacillus megaterium.*

***Acinetobacter johnsonii*.** Según Montaña S. 2016. *Acinetobacter johnsonii* rara vez causa infecciones en humanos. Aunque la mayoría de los aislamientos de *A. johnsonii* son susceptibles a casi todos los antibióticos, recientemente se han descrito cepas que albergan una variedad de lactamasas β. Una cepa clínica de *A. johnsonii* recuperada de un hospital en Buenos Aires produce PER-2 y OXA-58. En los últimos años, el aumento de bacterias resistentes a los antibióticos ha planteado una seria amenaza para la salud humana. Las recuperaciones de especies no reconocidas previamente como una amenaza en el entorno hospitalario han sido ampliamente reportadas (Chusri. S,

2014). Los estudios de comparación del genoma en *acinetobacter johnsonii* revelaron 240 genes únicos y una estrecha relación con otras cepas, aislada de la orina de un paciente en China. El análisis genómico mostró evidencia de eventos de transferencia genética horizontal (HGT), se encontraron cuarenta y cinco secuencias de inserción y dos profagos intactos. Estos resultados sugieren que *A. johnsonii* adquiere activamente ADN exógeno de otras especies bacterianas y se convierte concomitantemente en un reservorio de genes de resistencia (Montaña S. 2016).

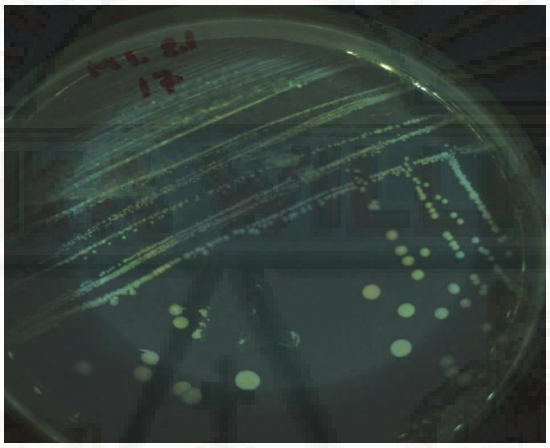


Ilustración 54. *Cinetobacter johnsonii*

Bacillus zhangzhouensis *Bacillus* es un género de bacterias grampositivas, con forma de bastoncillo (bacillus) y un miembro del filo Firmicutes. Las especies de Bacillus pueden ser aerobios obligados (que dependen del oxígeno) o anaerobios facultativos (que tienen la capacidad de ser aeróbicos o anaeróbicos). (Kumar, D. *et al* 2014)

Bacillus zhangzhouensis Zhang zhou N.L. masc. Adj. zhangzhouensis de Zhangzhou, una ciudad en Fujian, China, donde se aisló la cepa (Yang, L. *et al.*, 2016)

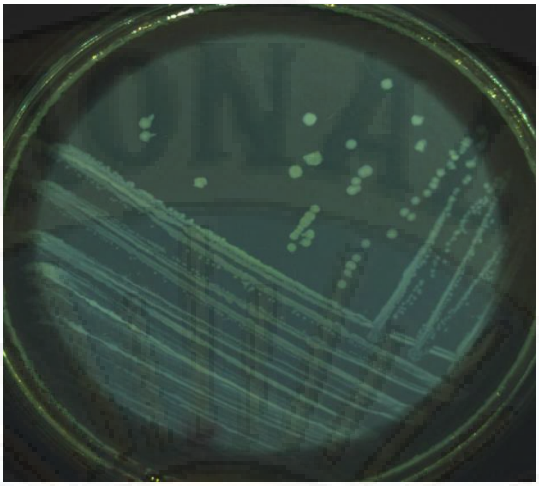


Ilustración 55. *Bacillus zhangzhouensis*

Pseudomonas congelans. *Pseudomonas congelans* tiene la capacidad de degradar al 2, 4-D, Diclorofenoxiacetico es uno de los herbicidas más usados para controlar malezas de hoja ancha, el ingrediente activo, sin embargo, tiene efectos crónicos sobre la salud humana y efectos letales sobre el suelo. Se ha demostrado que existen microorganismos que tienen la capacidad de degradar estos compuestos fenólicos, a la que se le denomina biorremediación, aun que anteriormente ya se habían descrito otros géneros de bacterias con capacidad para degradar este compuesto como Alcaligenes, Ralstonia, Delftia, Arthrobacter y Burkholderia (Chaudhry, G. & Huang, G. 1988).

Fue en el género Pseudomonas dónde se caracterizó por primera vez la vía de degradación del 2,4-D. (Evans, W. & Smith, B. 2001. Por ello es que siempre existe la posibilidad de encontrar nuevas especies con la capacidad de degradar el 2,4-D, siempre y cuando estas bacterias tengan la capacidad de adquirir estos plásmidos.

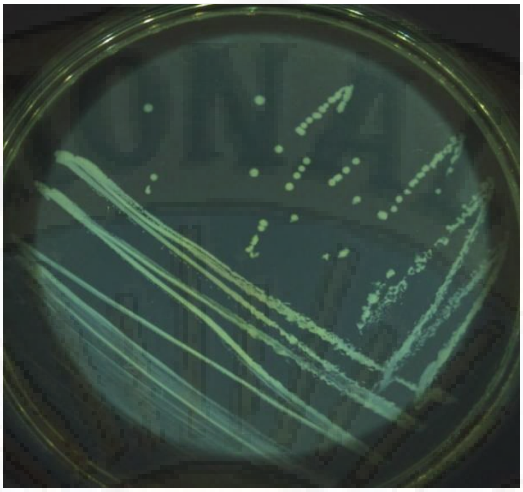


Ilustración 56. *Pseudomonas congelans.*

Janibacter limosus. La especie tipo del género, *Janibacter limosus*, se aisló originalmente de los lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales. Otras especies se han aislado de una muestra de aire, un melón, el intestino medio de mosquitos, el coral, los sedimentos marinos y los sedimentos hidrotermales (Matin, K. 1999).

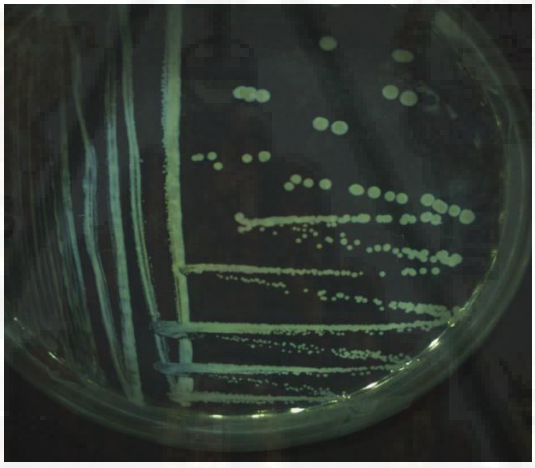


Ilustración 57. *Janibacter limosus.*

Enterobacter aerogenes. Enterobacter es un género de bacterias gramnegativas comunes, facultativamente anaeróbicas, con forma de bastón y que no forman esporas. La familia enterobacterias. Varias cepas de estas bacterias son patógenas y causan infecciones

oportunistas en Hospedadores inmunocomprometidos (generalmente hospitalizados). (Sanders, W.E. & Sanders C.C. 1997)

Las vías urinarias y respiratorias son los sitios más comunes de infección *Enterobacter aerogenes* es gramnegativo, oxidasa negativa, catalasa positiva, citrato positivo, indol negativo, en forma de barra, la bacteria tiene una longitud aproximada de 1 a 3 micrones, y es capaz de moverse a través de peritrichous flagelos. *E. aerogenes* es una bacteria nosocomial y patógena que causa infecciones oportunistas, incluida la mayoría (Sanders, W.E. & Sanders C.C. 1997).

E. aerogenes se adquiere en unidades de cuidados intensivos de tres formas diferentes: diseminación paciente a paciente de una cepa prevalente o relacionada con la epidemiología, adquisición de novo de una cepa de la propia flora de los pacientes y adquisición de una cepa no endémica seguido de una transmisión ocasional de paciente a paciente. (Davin, A. *et al.*, 2018)

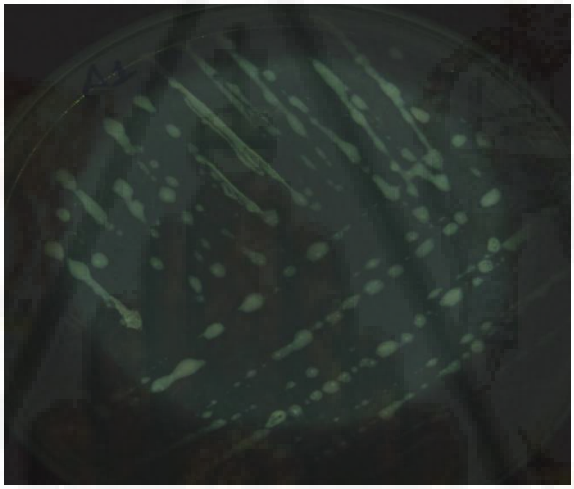


Ilustración 58. *Enterobacter aerogenes.*

Rahnella aquatilis. Rahnella aquatilis es una bacteria gramnegativa en forma de bastoncillo relativamente rara que se ha encontrado en agua dulce, suelo, en el agua fresca, en reservorios de agua, en el suelo y en caracoles; en los humanos es patógena y puede causar infección renal y respiratoria (Tash, 2005).

Ilustración 59. *Rahnella aquatilis.*

Staphylococcus saprophyticus. Staphylococcus es un género de bacterias Gram positivas. Bajo el microscopio, aparecen redondos (cocos), y se forman en racimos en forma de uva. El género *Staphylococcus* incluye al menos 40 especies.

La mayoría son inofensivos y residen normalmente en en la piel y las membranas mucosas de los seres humanos y otros organismos. *Staphylococcus saprophyticus* es un coco grampositivo que pertenece al género *Staphylococcus coagulasa* negativo. *S. saprophyticus* es una causa común de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad. *Staphylcoccus saprophyticus* no es. Se encuentra naturalmente en humanos sanos. Infecta a los humanos a través de las relaciones sexuales o por contacto con animales. *S. Saprophyticus* coloniza en el tracto urinario de mujeres jóvenes y hombres de todas las edades (Archer, G. 2000).

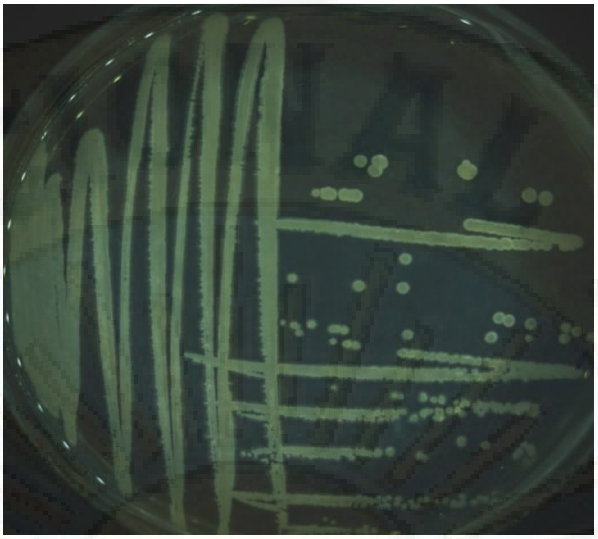


Ilustración 60. *Staphylococcus saprophyticus*

Stenotrophomonas maltophilia. Es un bacilo gramnegativo no fermentador con una importancia creciente como agente nosocomial, originalmente descrito como un microorganismo colonizador de limitado poder patogénico, en los últimos años se está describiendo como un verdadero patógeno asociado a una significativa morbimortalidad (Senol, E. 2004) Es un bacilo de distribución universal que se ha aislado en el suelo, el agua, los vegetales y los animales, así como en diferentes ambientes hospitalarios (agua de grifos, humidificadores, jabones y desinfectantes, catéteres, etc.), incluidas las manos del personal sanitario. Tan extendida distribución ambiental estaría en relación con la amplia diversidad genética que presentan los aislados clínicos, incluso en las cepas detectadas en un mismo centro durante un período concreto (Valdezate, S. 2004).

No son bien conocidos los mecanismos de virulencia de *S. maltophilia*, aunque recientemente se ha relacionado su patogenicidad con la expresión de determinados factores (hemolisina, elastasa y disminución de la estimulación de neutrófilos), de forma similar a como ocurre en otros bacilos no fermentadores (Apisarnthanarak, A. *et al.,* 2003). Tampoco se conoce a fondo su modo de adquisición, si bien se asume que la hospitalización prolongada y la antibioterapia de amplio espectro

actuarían seleccionando al microorganismo en las vías respiratorias o en el tracto gastrointestinal, pasando más tarde a colonizar otras localizaciones o producir diversas infecciones en pacientes especialmente predispuestos; de ahí su consideración como patógeno oportunista de ámbito nosocomial (Valdezate, S. 2004). Las tasas de aislamiento de *S. maltophilia* en hospitales se han ido incrementando en los últimos años, tanto como colonizador, como agente causante de infección, en especial en aquellos pacientes en los que concurren varios de los factores de riesgo antes mencionados (Valdezate, S. 2004).

Ilustración 61. *Stenotrophomonas maltophilia.*

Pseudomonas baetica. Pseudomonas es un género de gammaproteobacterias aerobias gramnegativas, pertenecientes a la familia Pseudomonadaceae Contiene 191 especies válidamente descritas. Los miembros del género demuestran una gran diversidad metabólica, y en consecuencia son capaces de colonizar una amplia gama de nichos (Cornelis, P. 2008).

Estudios realizados por (López, J. *et al.*, 2013) *Pseudomonas baetica* es un patógeno bacteriano descrito recientemente en acedía (*Dicologoglossa cuneata*), al determinar su capacidad para producir mortalidad en otras especies de peces marinos cultivados (dorada, lubina, lenguado y corvina), así como desarrollar un protocolo de PCR

para diagnóstico, *P. baetica* mostró ser patógena para todas las especies utilizadas, si bien se observaron diferencias en función de la especie (acedía y lenguado fueron las más susceptibles, la dorada la más resistente) y la temperatura del ensayo (la mortalidad fue mayor a 14 ºC que a 20 ºC). Además, se ha demostrado que *P. baetica* es capaz de causar mortalidad por inmersión. Por último, se ha desarrollado un protocolo de PCR con cebadores diseñados en el gen gyrB que permite el diagnóstico rápido de esta especie.

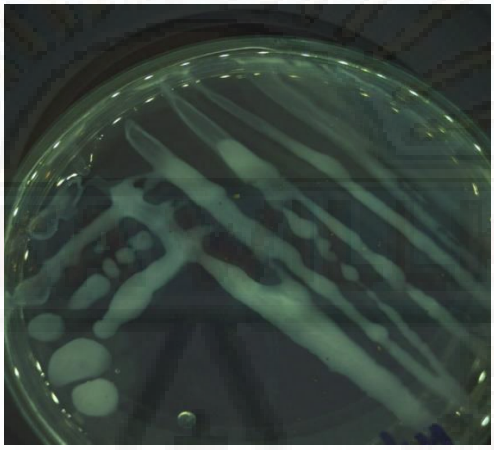


Ilustración 62. *Pseudomonas baetica.*

Pantoea agglomerans. *Pantoea* es un género de bacterias gramnegativas de la familia *Enterobacteriaceae*, recientemente separadas de la Género enterobacter. Este género incluye al menos 20 especies. *Pantoea agglomerans* es una bacteria gramnegativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. *P. agglomerans* puede Se encuentran en todo el entorno de una abeja. Se ha informado ocasionalmente que *Pantoea agglomerans* es una oportunidad Patógeno en pacientes inmunocomprometidos, causando infecciones en heridas, sangre y tracto urinario. Las infecciones son típicamente Se adquiere a partir de partes de vegetación infectadas que penetran en la piel. Los líquidos o productos sanguíneos intravenosos contaminados son sólo raramente el agente causal. La infección del torrente sanguíneo

puede provocar una enfermedad diseminada y una infección de órganos terminales Wang, S. *et al.*, 2012.

la bacteria de aparición espontánea rara vez ha sido informó, especialmente para los niños, y el papel de *P. agglomerans* como patógeno en otras circunstancias no está claro (Cruz, A. 2007).

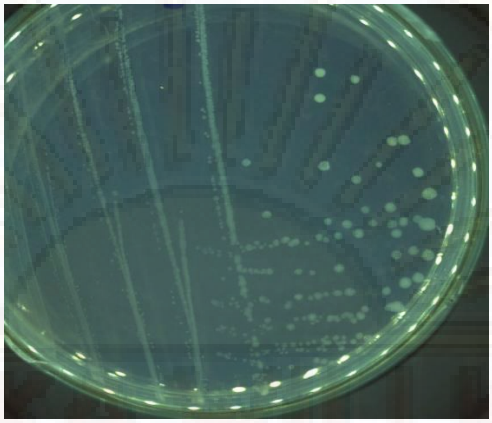


Ilustración 63. *Pantoea agglomerans.*

Este estudio se ha llevado a cabo mediante el uso de las herramientas de asilamiento bacteriano conocida como medios de cultivo, para determinar la diversidad de bacterias en suelo degradado y suelo de alta fertilidad natural e en el cultivo de quinua. Obteniéndose resultados con diferencias y similitudes de presencia de micoorganismos. El resultado de esta investigación concuerda con los que obtuvieron (Shannon *et al.*, 2002), los mismos que encontraron que las diferencias en las comunidades microbianas en suelos con tendencias orgánicas y convencionales, fueron leves y que en muchos de los parámetros físicos analizados no se encontraron diferencias significativas. Otros investigadores también han reportado, que el manejo orgánico influenció fuertemente en la actividad de las enzimas del suelo, pero no ejerció un efecto importante en las comunidades microbianas (Bowles *et al*., 2014).

Además, otro estudio ha reportado que la biodiversidad en porcentaje de cobertura para sistemas de manejo orgánicos y sistemas de manejo convencional fueron 65,1% y 65,8%, respectivamente, dando que la

riqueza de especies y el índice de dominancia observadas en orgánico y convencional no fueron significativamente diferentes (Pershina *et al.*, 2015).

Por otro lado, también se han reportado diferencias significativas dentro de las comunidades microbianas del suelo, cuando éste se somete a distintos tipos de manejo. Por ejemplo, (Hartmann *et al.*, 2014) afirman que en la agricultura orgánica aumentó la riqueza de la microbiota del suelo en comparación con los suelos manejados convencionalmente bajo fertilización exclusivamente mineral. De manera similar, Reganold *et al.*, (2010) mencionan que, en los suelos de cultivos de fresa bajo manejo orgánico, la diversidad genética también fue significativamente mayor a los suelos bajo manejo convencional. En el presente estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las comunidades microbianas evaluadas, posiblemente se le puede atribuir a la ausencia de laboreo en los suelos bajo los dos sistemas de manejo estudiados. En efecto, cuando la labranza es mínima, los residuos vegetales quedan en la superficie del suelo, lo que favorece la proliferación de hongos en los primeros milímetros del suelo (Lee y Pankhurst 1992). Adicionalmente, algunos autores mencionan que lo que más afecta a la población microbiana del suelo, tanto en su cantidad como en su actividad y en sus relaciones poblacionales es el cambio de la cobertura vegetal nativa por una cobertura de cultivos o de pastos (Jaramillo 2002). Se presume que los sistemas de manejo orgánico y convencional no influenciaron totalmente sobre la composición y diversidad de las comunidades microbianas de bacterias y hongos de los suelos en estudio.

No obstante, aunque no exista diferencias en la presencia de microorganismos aislados del suelo rizosférico y no rizosférico de suelo fertil y degradado en la diversidad de bacterias en cultivos de Quinua, no se afirma que las dos comunidades microbianas sean exactamente idénticas en diversidad, ya que en este estudio no se ha analizado a nivel

de UTO (unidades taxonómicas operacionales). Es decir, puede aparentar que el cultivo orgánico y convencional tengan la misma diversidad, pero no se sabe que tipos de microorganismos estén presentes en esos suelos, pudiendo ser microorganismos patógenos, benéficos, antagonistas, oportunistas, etc.

Los resultados conseguidos de los análisis físico químicos, también muestran la ausencia de diferencias significativas entre los sistemas de manejo del suelo fertil y degradado. En relación con esto, (Shannon *et al.*, 2002) también reportan que no existen diferencias significativas en estas propiedades en comparación a los dos sistemas de manejo. Sin embargo, (Van Diepeningen *et al*.,2006), mencionan que el tipo de suelo influyó en los niveles de pH, y carbono orgánico, número de bacterias oligotróficas y de diferentes grupos de nematodos, así como en diferentes índices de diversidad.

CONCLUSIÓN

- En la presente investigación se logró aislar 83 diversidades bacterianas de ambos suelos pertenecientes a la fila Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria y Bacilli.
- Se identificó 17 diversidades bacterianas del suelo rizosférico fértil.
- Se identificó 26 diversidades bacterianas del suelo no rizosférico fértil.
- Se identificó 22 diversidades bacterianas del suelo rizosférico degradado.
- Se identificó 17 diversidades bacterianas del suelo no rizosférico degradado.
- Se identificaron agrupaciones más específicas a nivel de especie de las cuales la bacteria de mayor población fue *Athrobacter nitroguajacolicus* que tiene la capacidad de pesticidas del suelo. Esta investigación constituye un aporte parcial al conocimiento de la diversidad bacteriana existentes en el suelo rizosférico y no rizosfercio del cultivo de quinua.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda extender la investigación a nivel de investigacion aplicada. Además, se recomienda seleccionar sitios de cultivos con un manejo mayor de 5 años, ya sea orgánico y convencional, de preferencia con certificaciones de manejo.
- Evaluar los cambios en la estructura y diversidad de bacterias y hongos funcionales, mediante la selección de diferentes marcadores moleculares y diseño experimentales que permitan responder preguntas puntuales con relación a estrategias de manejo asociadas a planes de fertilización o aplicación de pesticidas y herbicidas, entre otros. De esta manera se podrá obtener información más concluyente, que permitirá relacionar las comunidades de bacterias y hongos con la función ecológica y variables específicas de manejo agrícola, en cultivos de quinua comercial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarez, H. 2010.Biología de *Rhodococcus* Springer Science & Business Media.pp. 231–256. 9783642129377.
2. Alvarez, V. 2006. Influencia de las condiciones de crecimiento en la producción de enzimas proteolíticas extracelulares en *Paenibacillus peoriae* NRRL BD-62 y *Paenibacillus polymyxa* SCE2 https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02015.x.
3. Apisarnthanarak, A. *et al.*, 2003. *Stenotrophomonas maltophilia* intestinal colonization in hospitalized oncology patients with diarrhoea, 37 (2003), pp. 1131-5 http://dx.doi.org/10.1086/378297.
4. Archer, G. 2000. Staphylococcus epidermidis and Other Coagulase-Negative Staphylococci. Mandel, Douglas, Bennet Principles and Practice of Infectious diseases Ed WB Saunders.
5. Arencibia D. 2008. Has more than 120 publications in international and national journal. His work is about new natural sources for therapeutic use and vaccine (Preclinic Pharmacology and Toxicology).
6. Arias Cifuentes, E., & Piñeros Espinosa, P. 2018. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelos de los parámos de Guasca y Cruz verde., de Pontificia Universidad Javeriana: http: //www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf.
7. Baeza, A. 2003. Procedimiento para la conservación y preparación de muestras de suelo para la determinación de la radiactividad. Universidad de Extremadura.
8. Basilio, J. & Anía, M. 2007. Serratia *University of Texas at Houston Medical School*. Archivado desde el original el 28 de enero de 2007. Consultado el 14 de marzo de 2007.
9. Bastidas C. 2018. Guía para prácticas de laboratorio microbiología, ingeniería en biotecnología, ibt502 – Microbiología.
10. Behrendt U. *et al.*, 2002. "Nomenclature Abstract for Plantibacter flavus Behrendt. The NamesforLife Abstracts. doi:10.1601/nm.6148.
11. Behrendt, U. *et al*., 2002. Diversity of grass-associated Microbacteriaceae isolated

from the phyllosphere and litter layer after mulching the sward; polyphasic characterization of Subtercola pratensis sp. nov., Curtobacterium herbarum sp. nov. and Plantibacter flavus gen. nov., sp. nov.

12. Behrendt; et al., 2003. Fluorescent pseudomonads associated with the phyllosphere of grasses; Pseudomonas trivialis sp. nov., Pseudomonas poae sp. nov. and Pseudomonas congelans sp. nov.*i*nt J Syst Evol Microbiol. *53 (Pt 5): 1461–9. doi:10.1099/ijs.0.02567-0.*
13. Ben Gharsa, H., Bouri, M., Glick, B. R., Gannar, A., Mougou Hamdane, A., & Rhouma, A. 2018. Evaluation of the interspecific competition within Agrobacterium spp. in the soil and rhizosphere of tomato and maize. Journal of Plant Pathology. doi:10.1007/s42161-018-0114-y url to share this paper: sci-hub.tw/10.1007/s42161-018-0114-y.
14. Bibashi, E. 1999. Case of peritonitis caused by Ewingella americana in a patient undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis J Clin Microbiol, 37 (1999), pp. 3733-3734.
15. Blasco, R. 2001. Rhodococcus sp. RB1 crece en presencia de altas concentraciones de nitrato y nitrito y asimila el nitrato en ambientes moderadamente salinos. Archivos de Microbiología, 175 (6): 435–440. Doi: 10.1007 / s002030100285.
16. Bowles, TM; Acosta Martínez, V; Calderón, F; Jackson, LE. 2014. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. Soil Biology and Biochemistry 68: 252-262.
17. Charles *et al*., 2017. El aislamiento, la identificación, caracterización, y la detección de bacterias rizosféricas para la actividad herbicida DOI 10.1007 / s13165-017-0184-8
18. Chaudhry, G. & Huang, G. 1988. Isolation and characterization of a new plasmid from a Flavobacterium sp. which carries the genes for degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetate. J Bacteriol. 170(9):3897– 902.
19. Chotte, J.-L. 2018. Importance of Microorganisms for Soil Aggregation. Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions, 107–119. doi:10.1007/3-540-26609-7_5.
20. Choudhary, M., Sharma, P. C., Jat, H. S., Dash, A., Rajashekar, B., McDonald, A. J., & Jat, M. L. 2018. Soil bacterial diversity under conservation agriculture-based

cereal systems in Indo-Gangetic Plains. 3 Biotech, 8(7). Doi: 10.1007/s13205-018-1317-9.

21. Chusri, S. *et al.,* 2014. Clinical outcomes of hospital-acquired infection with *Acinetobacter nosocomialis* and *Acinetobacter pittii*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2014;58(7):4172–9. doi: 10.1128/AAC.02992-14; PubMed Central PMCID: PMCPMC4068534.
22. Condemarín, C. *et al.,* 2018. Efecto de bacterias nativas del suelo cultivado y prístino sobre el control del nematodo agallador radicular, *Meloidogyne javanica*. En condiciones in vitro y producción de biomasa http://dx.doi.org/http://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25211.
23. Conn, H. 1928. A type of bacteria abundant in productive soils, but apparently lacking in certain soils of low productivity. New York State Agricultural Experimental Station Technical Bulletin, 138, 3-26.
24. Corbiere, M. 2006. Staphylococcal community of a small unit manufacturing traditional dry fermented sausages. Int. J. Food Microbiol. 108(2):210-217
25. Cornelis, P. (2008). Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology (1st ed. edición). Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-19-6.
26. Cornelis, P. 2008. *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology* (1st ed. edición). Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-19-6
27. Cornelis, P. 2008.Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology (1st ed.). Caister Academic Press. ISBN 1-904455-19-0.
28. Costa, J., Oliveira, R. S., Tiago, I., Ma, Y., Galhano, C., Freitas, H., & Castro, P. 2018. Soil Microorganisms. Advances in Plant Ecophysiology Techniques, 457–482. doi:10.1007/978-3-319-93233-0_27.
29. Cursio. (2002). Investigación cuantitativa. Colombia: KINESIS.
30. *Cruz, A. 2007. Pantoea agglomerans*, a Plant Pathogen Causing Human Disease. Journal of Clinical Microbiology, 45(6), 1989–1992. doi:10.1128/jcm.00632-07.
31. Da Costa, P. 2000. De Carvalho Valle A case of keratoconjunctivitis due to Ewingella americana and a review of unusual organisms causing external eye infections Braz J Infect Dis, 4 (2000), pp. 262-267.
32. Daane, L. & Harjono, I. 2001. Isolation and characterization of polycyclic Aromatic hydrocarbondegrading bacteria associated with the Rhizosphere of salt Marsh plants. Applied and Environmental Microbiology. 67(6):2683-2691.
33. Davin, A. *et al.,* 2018**.** Epidemiología molecular de la adquisición de Enterobacter

aerogenes: estudio prospectivo de un año en dos unidades de cuidados intensivos.

34. Dobson, A., Cotter, PD, Ross, R. P., y Hill, C. 2012. Bacteriocin Producción: ¿un rasgo probiótico? Apl. Reinar. Microbiol, 78, 1–6
35. Dobson, A., Cotter, PD, Ross, R. P., y Hill, C. 2012. BacteriocinProducción: ¿un rasgo probiótico? Apl. Reinar. Microbiol, 78, 1–6.
36. Esakkiraj, P. & Usha, R. 2012. Producción en estado sólido de esterasa utilizando desechos de procesamiento de pescado por *Bacillus altitudinis* AP-MSU. Food Bioprod Process 90:370376. doi: 10.1016 / j.fbp.2011.12.008.
37. Evans, W. & Smith, B. 2001. Davies JI. Bacterial metabolism of 2,4 dichlorophenoxyacetate. Biochem J. 122:543 – 551.
38. Francis KE, Spiker S., 2005. Identification of Arabidopsis thaliana transformants without selection reveals a high occurrence of silenced T-DNA integrations. Plant Journal. 41(3): 464
39. Fritze, D. & Pukall, R. 2001. Reclassification of bioindicator strains *Bacillus subtilis* DSM 675 and *Bacillus subtilis* DSM 2277 as *Bacillus atrophaeus*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51**:**35-37.
40. Fuller, SJ. & Wiley, JS. 2013. Heme biosynthesis and its disorders: porphyrias and sideroblastic anemias. In: Hoffman R, Benz EJ Jr, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2013: chap 36.
41. Fuller, Y. & Perreault, N. 2010. Degradación microaerófila de hexahidro-1,3 ,5-trinitro-1,3,5-triazina (RDX) por tres cepas de Rhodococcus. Cartas en microbiología aplicada. 51 (3): 313–318. doi10.1111 / j.1472-765x.2010.02897x PMID 0666987- a través de Wiley.
42. Gelvin, S. 2000. "Agrobacterium and plant genes involved in T-DNA transfer and integration", Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology, 51, 223-256.
43. George M. & Garrity 2012. *Bergey's manual of systematic bacteriology (2nd ed.). New York: Springer Science + Business Media.* ISBN 0-387-68233-3.
44. George, N. 2005. Agrios 2005. fitopatología 5ª edición (PDF). Prensa Académica, Nueva York, USA. Consultado el 4 de diciembre de 2016.
45. Grady, R. *et al*., 2001. Genotyping of European isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by fluorescent amplified-fragment length polymorphism

analysis (FAFLP) and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) typing. J. Med. Microbiol. 50**:**588-593.

46. Hartmann, M; Frey, B; Mayer, J; Mäder, P; Widmer, F. 2014. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. The ISME journal 9(5): 1177-1194.
47. Harveson, R. *et al*., 2007. "Enfermedades bacterianas de los frijoles secos comestibles en las planicies altas centrales". Salud *Vegetal Prog*.
48. Hassan, S. 2012. Mittal R. Ewingella americana: An emerging true pathogen. Case Rep Infect Dis. 2012 [Internet]. [consultado 21 Jun 2013]. Disponible en: http://www.hindawi.com/crim/id/2012/730720/.
49. Hauben, L. 1999. Genomic diversity of the genus Stenotrophomonas. *Int J Syst Bacteriol*. 49 Pt 4: 1749-60.PMID 10555357.
50. Hayatsu, M., Hirano, M., & Nagata, T. 1999. Involvement of two plasmids in degradation of carbaryl by Arthrobacter sp. strain RC100. Applied and Environmental Microbiology, 65, 1015-1019.
51. Huang, H-C., Hsieth, T. F., and Erickson, R. S. 2003. Biology and epidemiology of Erwinin rhapontici, causal agent of pink seed and crown rot of plants. Plant Pathol. Bull. 12:69-76.
52. Janssen, P. *et al*., 1996**.** Evaluation of the DNA fingerprinting method AFLP as a new tool in bacterial taxonomy. Microbiology 142**:**1881-1893.
53. Jaramillo, D. 2002. Introducción a la ciencia del suelo. Facultad de ciencias. Universidad Nacional de Colombia 2002: 619.
54. Khan, JA. 2011. La biodegradación de los colorantes azoicos Moderadamente halotolerant por*Bacillus megaterium* y Estudio de enzima implicada en la degradación azorreductasa. *Advanced Biotech* 10 21-27 (2011).
55. Kittiy, A. 2015. Los pacientes enfrentan más infecciones mortales por enterobacterias resistentes a los carbapenemes o ERC.
56. Komagata, K. & K. Suzuki. 2000. Genus Curtobacterium Yamada and Komagata 1972 425AL, p. 1313-1317. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 2. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
57. Kotouckova, L. 2004. "Arthrobacter nitroguajacolicus sp. Nov., Una nueva actinobacteria degradadora de 4-nitroguaiacol". *Revista Internacional de Microbiología Sistemática y Evolutiva* 54(3): 773-777.doi10.1099 / ijs.0.02923-0 .

58. Kumar, D. *et al.*, 2014. Application of a statistically enhanced, novel, organic solvent stable lipase from Bacillus safensis DVL-43 (PDF). International Journal of Biological Macromolecules. 66: 97–107. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.02.015.
59. Kumar, N. 2000. Debabrata Das Erratum to "Enhancement of hydrogen production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08" Process Biochemistry, Volume 35, Issue 9, May 2000, Pages 1075.
60. Kunik, T. *et al.*, 2001. "Genetic transformation of HeLa cells by Agrobacterium", Proceedings of the National Academic of Sciences, 98, 1871- 1876.
61. Laczi, K. *et al.*, 2015.mRespuestas metabólicas de *Rhodococcus erythropolis* PR4 cultivadas en diesel y varios hidrocarburos" (PDF). Microbiología aplicada y biotecnología. 99 (22): 9745-9759.doi10.1007 / s00253-015-6936-z PMID 26346267.
62. Lee, KE; Pankhurst, CE. 1992. Soil organisms and sustainable productivity. Australian Journal of Soil Research 30(6): 855-892.
63. Lee, W. *et al*., 2009. "Maize oleosin is correctly targeted to seed oil bodies in Brassica napus transformed with the maize oleosin gene", Proceedings of the National Academic of Sciences, 88, 6181-6185.
64. Lineweaver H, Burk D (1934). La determinación de las constantes de disociación de la enzima. J AmChemSoc 56: 658 – 666
65. López, J. *et al.*, 2013. Pseudomonas baetica: patogenicidad para peces marinos cultivados y desarrollo de un protocolo de PCR para diagnóstico.
66. Madigan, M. 2005. Biology of Microorganisms (11th ed. edición). Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1.
67. Madigan, M., Martinko, J., &Parker, J. 2009. Biología de los Microorganismos. New Jersey. Estados Unidos. Pearson Prentice Hall.
68. Maisak, H., Jantrakajorn, S., Lukkana, M. y Wongtavatchai, J. 2013. Actividad antibacteriana del tanino de madera de castaño dulce contra aeromonas y patógenos estreptocócicos de la tilapia (Oreochr omis niloticus). Thai J. Vet. Med., 43, 105-111.
69. Matin, K. 1999. *Janibacter limosus* gen. mnov., sp. nov., un nuevo actinomiceto con *ácido meso*-diaminopimélico en la pared celular.
70. Matsukura, H. *et al.*, 2008. Infective endocarditis caused by an unusual Gram-negative rod, Rahnella aquatilis. Pedriat. Cardiol. 17:108, 1996.
71. Mauricio M. 2018. Filogenia bacteriana mediante el análisis del rrna 16s, Carrera

de Biología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Estado de México 54090, México.

72. McLeod, M. *et al.,* 2006. El genoma completo de Rhodococcus sp. RHA1 proporciona información sobre una potencia catabólica. 103 (42):15582-15587. doi: 10.1073 / pnas.0607048103.
73. Mendez, V. 2012. Microbios en la investigación aplicada; avances y retos actuales; procedimientos. Científico mundial pp. 197–200. 9789814405034.
74. Miller; R. & Pollard, K. 1976.Compendio multilingüe de enfermedades de plantas. Sociedad Americana de Fitopatología.
75. Minam. 2018 Guia-para-el-muestreo-de-suelo.pdf Perú. Ministerio del Ambiente Guía para el Muestreo de Suelos / Ministerio del Ambiente. Dirección General de Calidad Ambiental. -- Lima: MINAM.
76. Montaña, S. 2016. The Genetic Analysis of an *Acinetobacter johnsonii* Clinical Strain Evidenced the Presence of Horizontal Genetic Transfer PLoS One. 2016; 11(8): e0161528. Published online 2016 Aug 22.doi:10.1371/journal.pone.0161528
77. Nakamura, L. 1989. Taxonomic relationship of black-pigmented *Bacillus subtilis* strains and a proposal for *Bacillus atrophaeus* sp. nov.Int. J. Syst. Bacteriol.39**:**295-300.
78. Nam, S. 2004.Tsukamurella pseudospumae sp. Nov., Un nuevo actinomiceto aislado de espuma de lodo activado. Revista Internacional de Microbiología Sistemática y Evolutiva. 54 (Pt 4): 1209-12.doi:10.1099 / ijs.0.02939-0 5280293.
79. Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, AH, & Austin, B. 2014. Revisión: desarrollo de probióticos para el control de enfermedades enacuicultura. Acuicultura, 431, 1–11.
80. Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, AH, y Austin, B. 2014. Revisión: De-desarrollo de probióticos para el control de enfermedades enacuicultura. Acuicultura, 431 1–11.
81. O'Loughlin, E & Sims G. 1999. «Biodegradation of 2-methyl, 2-ethyl, and 2-hydroxypyridine by an Arthrobacter sp isolated from subsurface sediment». *Biodegradation* **10**: 93-104.
82. O'Loughlin, E. 1999. «Biodegradation of 2-methyl, 2-ethyl, and 2-hydroxypyridine by an Arthrobacter sp isolated from subsurface sediment». *Biodegradation* 10: 93-104

83. Padda k. *et. al*., 2017. Effect of GFP tagging of *Paenibacillus polymyxa* P2b-2R on its ability to promote growth of canola and tomato seedlings *Biology and Fertility of Soils*.52(3): 377–387. doi:10.1007/s00374-015-1083-3.
84. Padda, K. *et al.,* 2017. Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture. Springer, Singapore. pp. 165–191. doi:10.1007/978-981-10-5343-6_6. ISBN 9789811053429.
85. Padilla, R. 2018. Rol de los genes específicos de agrobacterium fabrum en su adaptación a la planta Université Claude-Bernard-Lyon-I, Francia.
86. Penna, T. & Silva, M. 2001. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs. BMC Infect. Dis. 1:16. [Online.] http://www.biomedcentral.com/1471-2334/1/16
87. Pershina, E; Valkonen, J; Kurki, P; Ivanova, E; Chirak, E; Korvigo, I; Provorov, N; Andronov, E. 2015. Comparative analysis of prokaryotic communities associated with organic and conventional farming systems. PLoS ONE 10(12): 1-16.
88. Pflieger, M., & Kroflič, A. 2017. *Acute toxicity of emerging atmospheric pollutants from wood lignin due to biomass burning. Journal of Hazardous Materials, 338, 132 139.* doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.05.023 url to share this paper: sci hub.tw/10.1016/j.jhazmat.2017.05.023
89. Potshangbam, M. *et al.,* 2018. Manifiesta que Bacillus altitudinis es un potente promotor del crecimiento de las plantas, endófito antagonista y biocontrolador facilitando así su aplicación en la agricultura orgánica.
90. Potshangbam, M. *et al.,* 2018. Proyecto de secuencia genómica de Bacillus altitudinis Lc5, una cepa endófita promotora de biocontrol y crecimiento de plantas aislada del arroz negro indígena de Manipur.
91. Pound, M. 2007. Resistant Ewingella americana: A case report and review of the literatura Ann Pharmacother, 41 (2007), pp. 2066-2070 http://dx.doi. org/10.1345/aph.1K398.
92. Reganold, JP; Andrews, PK; Reeve, JR; Carpenter-Boggs, L; Schadt, CW; Alldredge, JR; Ross, CF; Davies, NM; Zhou, J. 2010. Fruit and soil quality of organic and conventional strawberry agroecosystems. PLoS ONE 5(9): 1-14.
93. Rojas, N. & MartÌnez, J. 2003. Levels of polychlorinated Biphenyls in Mexican Soils and Their Biodegradation using bioaugmentation. Environmental contamination and toxicology. 2003; 70:63-70.

94. Sakurai, H. 2014. "Molecular Cloning of an Inulin Fructotransferase (Depolymerizing) Gene from Arthrobactersp. H65–7 and Its Expression in Escherichia coli". Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. **61**: 87. *doi*:*10.1271/bbb.61.87*

95. Sammer, UF. & Reiher, K. 2012. Curtobacterium flaccumfaciens pv. Flaccumfaciens en soja en Alemania: una amenaza para la agricultura. *Revista de fitopatología*.160 (6): 314 316. doi 10.1111 / j.1439-0434.2012.01902x.

96. Sanders, W.E. & Sanders C.C. 1997. Enterobacter spp.: pathogens poised to flourish at the turn of the century. Clinical Microbiology Reviews 10 (2): 220–241.

97. Scott, D. A., & Baer, S. G. 2018. Degraded soil increases the performance of a dominant grass, Andropogon gerardii (Big bluestem). Plant Ecology, 219(8), 901–911. doi:10.1007/s11258-018-0844-0

98. Senol, E. 2004. Stenotrophomonas maltophilia. The significance and role as a nosocomial pathogen. J Hosp Infect, 57 (2004), pp. 1-7 http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2004.01.033.

99. Shannon, D; Sen, a M; Johnson, DB. 2002. A comparative study of the microbiology of soils managed under organic and conventional regimes. Soil Use and Management 18: 274-283.

100. Sharin, G. *2018*. Última actualization: February 01, Cómo preparar solución salina en el laboratorio.

101. Sharma *et al*., 2018. Aislamiento y caracterización de bacilos halotolerant de garbanzo (Cicer arietinum L.) rizosfera para la promoción y el control biológico rasgos de crecimiento de las plantas. 21 de agosto.

102. Shimizu, K., Nakamura, H. & Ashiuchi, M 2007. Polímero de bionilón inducible por sal de *Bacillus Megaterium* Apl. Medio ambiente Microbiol. 73: 2378-2379 (2007).

103. Shivaji S. *et al.,* 2006. *Bacillus aerius* sp. Noviembre, *Bacillus aerophilus* sp. noviembre, *Bacillus stratosphericus* sp. nov. y *Bacillus altitudinis* sp. Noviembre, aislado de tubos criogénicos utilizados para recoger muestras de aire de grandes altitudes. Int J Syst Evol Microbiol 56: 1465–1473.doi: 10.1099 / ijs.0.64029-0.

104. Sunar, K. *et al*., 2013. La eficacia del biocontrol y la actividad de promoción del crecimiento de las plantas de *Bacillus altitudinis está* aislada de las colinas de Darjeeling, India. J Basic Microbio 53: 91-104. doi: 10.1002 / jobm.201300227.

105. Todar, K. 2005. Todar's Online Textbook of Bacteriology, University of Wisconsin-Madison Departament of Bacteriology, EE. UU., http:/ /www.textbookofbacteriology.net/.
106. Turnbough, CL. 2003. Discovery of phage display peptide ligands for species-specific detection of *Bacillus* spores. J. Microbiol. Methods 53**:**263-271.
107. Turnbull, G. A., Ousley, M., Walker, A., Shaw, E., & Morgan, J. A. 2001. Degradation of substituted phenylurea herbicides by Arthrobacter globiformis strain D47 and characterization of a plasmid-associated hydrolase gene, puhA. Applied and Environmental Microbiology, 67(5), 2270-2275. Retrieved from Journals.ASM.org.
108. Urmi, H. 2017 Borrador del Informe del Genoma de *Bacillus altitudinis* SORB11, aislado del Sector Indio del Océano Austral Anuncio del genoma. Junio 2017; 5 (23): e00339-17. Publicado en línea el 8 de junio de 2017. doi: 10.1128 / genomeA.00339-17.
109. Valdezate, S. 2004. High genetic diversity among Stenotrophomonas maltophilia strains despite their originating at a single hospital. J Clin Microbiol, 42 (2004), pp. 693-9.
110. Van Diepeningen, AD; de Vos, OJ; Korthals, GW; van Bruggen, AHC. 2006. Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. Applied Soil Ecology 31(1-2): 120-135
111. Variar, S. *et al.,* 2007. *Bacillus megaterium*: desde una simple bacteria del suelo hasta un huésped de producción industrial de proteínas. *Appl Microbial Biotechnol* 76: 957-967 (2007).
112. Verlag, G. 2018. El mantenimiento de la vida en la tierra a través de sistema de aire limpio, agua pura, y el suelo fértil https://doi.org/10.1007/s11356-018-3528-3 Recibido: 30 septiembre 2018 / Aceptado: 17 de octubre 2018.
113. Vos, P. *et al., 2009.* Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática: Volumen 3: Los Firmicutes. *Springer* (2009).
114. Wang, S. *et al.,* 2012. Fighting malaria with engineered symbiotic bacteria from vector mosquitoes. Proceedings of the National Academy of Sciences.109 (31): 12734–12739.doi:10.1073/pnas.1204158109. PMC 3412027.
115. Wang, Z. *et al.,* 2010. *Rhodococcus jialingiae* sp. nov., an actinobacterium isolated from sludge of a carbendazim wastewater treatment facility. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2010, 60, 378-381.

116. Wise, K. A., Zhao, Y. F., and Bradley, C. A. 2008. First report of pink seed of pea caused by Erwinia rhapontici in North Dakota. Plant Dis. 92:315.

117. Yang, H. 2014. Two novel amphomycin analogues from Streptomyces canus strain Natural Product *Research*. 28 (12): 861–7. doi:10.1080/14786419.2014.886210. PMID 24568288.

118. Yang, L. *et al.*, 2016. Bacillus zhangzhouensis sp. nov. and Bacillus australimaris sp. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 66 1193–1199 DOI10.1099/ijsem.0.000856.

119. Zhang, Q., Wakelin, S. A., Liang, Y., & Chu, G. 2018. Soil microbial activity and community structure as affected by exposure to chloride and chloride-sulfate salts. Journal of Arid Land, 10(5), 737–749. doi:10.1007/s40333-018-0014-1.

120. Zhang, YL; Li, S; Jiang, DH; Kong, LC; mZhang, PH; Xu, JD 2013. Actividades antifúngicas de los metabolitos producidos por un término asociado a Streptomyces canus BYB02. Revista de Química Agrícola y Alimentaria. **61** (7): 1521-4. doi 10.1021 / jf305210u

121. Zheng *et al.*, 2018. Identificación y caracterización de bacterias de los campos agrícolas inorgánico-fosfato solubilizante con un método de aislamiento rápido https://doi.org/10.1186/s13568-018-0575-6.

122. Zheng, J., Feng, J.-Q., Zhou, L., Mbadinga, S. M., Gu, J.-D., & Mu, B.-Z. 2018. Characterization of bacterial composition and diversity in a long-term petroleum contaminated soil and isolation of high-efficiency alkane-degrading strains using an improved medium. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 34(2). doi:10.1007/s11274-018-2417-8.

123. Zhu, Y. 2018. Aislamiento e identificación de bifolio ammodendron bacterias endofíticas y el mecanismo de acción de la germinación de la semilla seleccionada aislamientos inducidos y sus efectos sobre la tolerancia del huésped osmótica de estrés**.** Recibido: June revisada: 20 septiembre / Aceptado: 28 septiembre. Springer-Verlag GmbH Alemania, parte de Springer Naturaleza.

APÉNDICE

Anexo 1. Porcentaje de identidad de la divesidad bacteriana de suelo rizósferico fértil.

Tema					puntuación		Indentidades		
ESPECIE	AC	Longitud	Comienzo	Fin	Poco	Valor E	Partido	Total	PCT (%)
Bacillus atrophaeus	NR_024689.1	1515	1	1486	2732	0	1484	1486	99.87
Bacillus atrophaeus	NR_024689.1	1515	1	1486	2726	0	1483	1486	99.80
Bacillus atrophaeus	NR_024689.1	1515	1	1486	2726	0	1483	1486	99.80
Agrobacterium tumefaciens	NR_115516.1	1472	12	1429	2553	0	1407	1419	99.15
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	4	1462	2678	0	1458	1461	99.79
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	6	1467	2682	0	1459	1462	99.79
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	6	1460	2687	0	1455	1455	100.00
Agrobacterium fabrum	NR_074266.1	1480	17	1444	2580	0	1418	1428	99.30
Enterobacter cloacae	CP017184.1	4748414	243429	244851	2562	0	1411	1423	99.16
[Curtobacterium] plantarum	NR_104943.1	1440	8	1430	2590	0	1417	1424	99.51
Agrobacterium tumefaciens	NR_115516.1	1472	12	1424	2599	0	1411	1413	99.86
Stenotrophomonas tumulicola	LC066089.1	1472	1	1472	2628	0	1456	1472	98.91

Paenibacillus peoriae	NR_117743.1	1541	5	1496	2671	0	1480	1496	98.93
Stenotrophomonas maltophilia	NR_041577.1	1538	11	1501	2647	0	1472	1491	98.73
Stenotrophomonas maltophilia	NR_041577.1	1538	17	1491	2636	0	1459	1475	98.92
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	5	1466	2682	0	1459	1462	99.79
Stenotrophomonas maltophilia	NR_041577.1	1538	11	1501	2645	0	1472	1491	98.73

Anexo 2. Porcentaje de identidad de la divesidad bacteriana de suelo no rizósferico fértil.

Tema					puntuación		Indentidades		
ESPECIE	AC	Longitud	Comienzo	Fin	Poco	Valor E	Partido	Total	PCT(%)
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	1	1456	2682	0	1455	1456	99.93
Bacillus atrophaeus	NR_024689.1	1515	1	1486	2726	0	1483	1486	99.80
Erwinia rhapontici	NR_041976.1	1497	4	1485	2675	0	1471	1482	99.26
Rahnella aquatilis	CP003244.1	4861101	411603	413083	2695	0	1474	1481	99.53
Rahnella aquatilis	CP003244.1	4861101	4814692	4813223	2643	0	1457	1470	99.12
Serratia grimesii	NR_025340.1	1495	2	1478	2704	0	1473	1477	99.73
Rhodococcus jialingiae	NR_115708.1	1489	13	1472	2684	0	1458	1460	99.86
Rhodococcus jialingiae	NR_115708.1	1489	13	1461	2676	0	1449	1449	100.00
Acinetobacter johnsonii	NR_117624.1	1530	13	1489	2699	0	1472	1477	99.66
Bacillus zhangzhouensis	JX680133.1	1513	15	1505	2728	0	1487	1491	99.73

Plantibacter flavus	AJ310417.1	1511	17	1470	2680	0	1454	1455	99.93
Janibacter limosus	NR_026362.1	1473	1	1459	2660	0	1453	1459	99.59
Rhodococcus jialingiae	NR_115708.1	1489	13	1470	2686	0	1457	1458	99.93
Paenibacillus amylolyticus	NR_025882.1	1508	22	1493	2682	0	1464	1472	99.46
Paenibacillus chibensis	NR_040885.1	1505	1	1488	2425	0	1428	1490	95.84
Janibacter limosus	NR_026362.1	1473	1	1459	2660	0	1453	1459	99.59
Arthrobacter oxydans	NR_026236.1	1486	6	1466	2667	0	1456	1461	99.66
Pseudomonas moraviensis	NR_043314.1	1524	14	1482	2673	0	1463	1470	99.52
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	5	1467	2689	0	1461	1463	99.86
Phyllobacterium ifriqiyense	NR_043192.1	1401	1	1401	2588	0	1401	1401	100.00
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	14	1467	2673	0	1452	1454	99.86
Arthrobacter globiformis	NR_026187.1	1464	7	1463	2675	0	1454	1457	99.79
Pseudomonas kilonensis	NR_028929.1	1528	13	1489	2676	0	1468	1477	99.39
Bacillus altitudinis	NR_042337.1	1506	23	1500	2723	0	1477	1478	99.93
Variovorax boronicumulans	NR_114214.1	1460	1	1460	2691	0	1460	1461	99.93
Variovorax boronicumulans	NR_114214.1	1460	1	1460	2697	0	1460	1460	100.00

Anexo 3 Porcentaje de identidad de la divesidad bacteriana de suelo rizósferico degradado.

Tema					puntuación		Indentidades		
ESPECIE	AC	Longitud	Comienzo	Fin	Poco	Valor E	Partido	Total	PCT(%)
Enterobacter aerogenes	KP764198.1	1462	1	1462	2678	0	1458	1462	99.73
Tsukamurella pseudospumae	NR_042800.1	1510	14	1463	2645	0	1444	1450	99.59
Rhodococcus corynebacterioides	NR_119107.1	1477	11	1453	2634	0	1437	1443	99.58
Arthrobacter globiformis	NR_026187.1	1464	5	1464	2641	0	1452	1462	99.32
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	5	1467	2686	0	1461	1464	99.80
Streptomyces canus	NR_043347.1	1494	8	1471	2686	0	1461	1464	99.80
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	1	1460	2689	0	1459	1460	99.93
Curtobacterium flaccumfaciens	NR_025467.1	1477	1	1458	2680	0	1456	1458	99.86
Ewingella americana	NR_104925.1	1534	15	1491	2615	0	1463	1484	98.58
Pseudomonas putida	AP013070.1	6156701	169491	170969	2689	0	1476	1484	99.46
Pseudomonas extremaustralis	LT629689.1	6674429	2650632	2649163	2704	0	1468	1470	99.86
Plantibacter flavus	AJ310417.1	1511	11	1476	2684	0	1463	1467	99.73
Pantoea agglomerans	NR_114735.1	1512	1	1474	2630	0	1457	1475	98.78
Staphylococcus succinus	NR_028667.1	1548	21	1507	2730	0	1485	1488	99.80

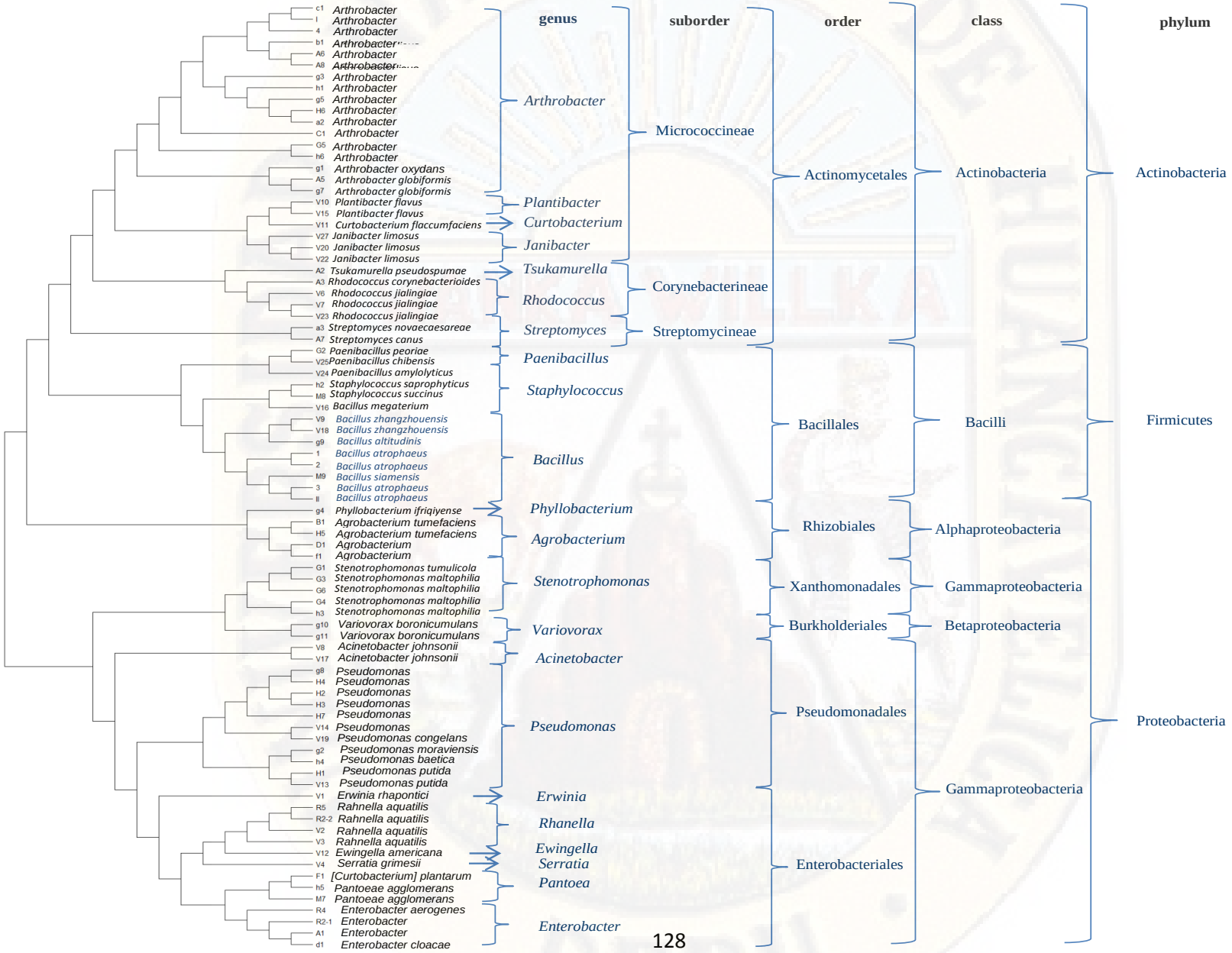
Bacillus siamensis	KY643639.1	1492	5	1487	2734	0	1482	1483	99.93
Pseudomonas putida	AP013070.1	6156701	169490	170959	2665	0	1461	1470	99.39
Pseudomonas kilonensis	NR_028929.1	1528	15	1483	2680	0	1464	1470	99.59
Pseudomonas kilonensis	NR_028929.1	1528	8	1481	2689	0	1468	1474	99.59
Pseudomonas kilonensis	NR_028929.1	1528	13	1485	2682	0	1467	1474	99.53
Agrobacterium tumefaciens	NR_115516.1	1472	18	1424	2538	0	1396	1407	99.22
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	5	1458	2680	0	1453	1454	99.93
Pseudomonas gessardii	NR_024928.1	1516	10	1477	2627	0	1455	1471	98.91

Anexo 4. Porcentaje de identidad de la divesidad bacteriana de suelo no rizósferico degradado.

Tema					puntuación		Indentidades		
ESPECIE	AC	Longitud	Comienzo	Fin	Poco	Valor E	Partido	Total	PCT (%)
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	11	1458	2675	0	1448	1448	100.00
Streptomyces novaecaesareae	NR_041124.1	1478	1	1462	2665	0	1456	1462	99.59
Bacillus megaterium	CP009920.1	5343114	1758575	1757087	2737	0	1487	1489	99.87
Acinetobacter johnsonii	NR_117624.1	1530	15	1494	2704	0	1475	1480	99.66
Bacillus zhangzhouensis	JX680133.1	1513	5	1497	2734	0	1490	1494	99.73
Pseudomonas congelans	AJ492828.1	1531	17	1484	2667	0	1460	1468	99.46
Janibacter limosus	NR_026362.1	1473	1	1452	2660	0	1448	1452	99.72
Enterobacter aerogenes	KP764198.1	1462	1	1462	2662	0	1455	1462	99.52
Rahnella aquatilis	CP003244.1	4861101	4814692	4813223	2687	0	1465	1470	99.66
Enterobacter aerogenes	KP764198.1	1462	1	1462	2673	0	1457	1462	99.66
Rahnella aquatilis	CP003244.1	4861101	4814690	4813208	2691	0	1475	1483	99.46
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	1	1467	2684	0	1463	1467	99.73
Staphylococcus saprophyticus	AP008934.1	2516575	2306182	2304697	2745	0	1486	1486	100.00

Stenotrophomonas maltophilia	NR_041577.1	1538	17	1501	2634	0	1466	1485	98.72
Pseudomonas baetica	NR_116899.1	1496	1	1455	2663	0	1451	1455	99.73
Pantoea agglomerans	NR_114735.1	1512	1	1475	2647	0	1460	1475	98.98
Arthrobacter nitroguajacolicus	NR_027199.1	1488	5	1467	2684	0	1460	1463	99.79

Arbol Filogenetico de las especies analizadas de bacterias



UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA
WANKA WILLKA
PERU