



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**ESCUELA DE POSGRADO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN:**  
**CIENCIAS AMBIENTALES**

**Caracterización molecular de bacterias asociadas a la  
filósfera, rizósfera y semillas de arroz y su eficiencia en el  
control de *Burkholderia glumae***

**Carlos Alberto Deza Navarrete**

**Tumbes, Perú**

**2016**





**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**ESCUELA DE POSGRADO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN:**  
**CIENCIAS AMBIENTALES**

**Caracterización molecular de bacterias asociadas a la  
filósfera, rizósfera y semillas de arroz y su eficiencia en el  
control de *Burkholderia glumae***

**Carlos Alberto Deza Navarrete**

**Tumbes, Perú**

**2016**

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Carlos Alberto Deza Navarrete, declaro que los resultados reportados en esta tesis, son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo declaro que hasta donde yo sé no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona excepto donde se reconoce como tal a través de citas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En este sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero es de mi propia autoría. Declaro, finalmente, que la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de mi asesor de tesis y mi jurado calificador, en cuanto a la concepción y al estilo de la presentación o a la expresión escrita.



---

Carlos Alberto Deza Navarrete



## UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES ESCUELA DE POSGRADO

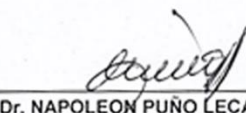
### ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

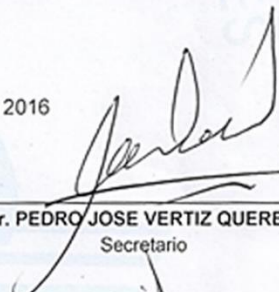
En Tumbes, a los dos días del mes de marzo del año dos mil dieciséis, a las once horas, en LA ESCUELA DE POSGRADO UNT. se reunieron los miembros del Jurado designados con Resolución Directoral N° 040-2014/UNT-EPG, Dr. NAPOLEON PUÑO LECARNAQUE - Presidente; Dr. PEDRO JOSE VERTIZ QUEREVALU Secretario; Dr. ADAN ALVARADO BERNUY, Dr. DAVID EDILBERTO SALDARRIAGA YACILA y Dr. LEOCADIO MALCA ACUÑA - Miembros; y con Resolución Directoral N° 008-2016/UNT-EPG-D se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis doctoral: **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS ASOCIADAS A LA FILOSFERA, RIZOSFERA Y SEMILLAS DE ARROZ Y SU EFICIENCIA EN EL CONTROL DE *Burkholderia glumae***; presentado por el egresado del Programa de Doctorado en Ciencias Ambientales Mg. CARLOS ALBERTO DEZA NAVARRETE, asesorado por el Dr. RAMON GARCIA SEMINARIO.

Concluida la exposición y sustentación, absueltas las preguntas y efectuadas las observaciones, lo declaran: APROBADO por UNANIMIDAD con calificativo de SOPRESALIENTE cumpliendo con el requisito de acuerdo al Reglamento de Otorgamiento de Doctorado en la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 13.15 horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público.


Tumbes, 02 de marzo de 2016

  
Dr. NAPOLEON PUÑO LECARNAQUE  
Presidente

  
Dr. PEDRO JOSE VERTIZ QUEREVALU  
Secretario

  
Dr. ADAN ALVARADO BERNUY  
Miembro

  
Dr. DAVID EDILBERTO SALDARRIAGA YACILA  
Miembro

  
Dr. LEOCADIO MALCA ACUÑA  
Miembro

C.c. Jurado de Proyecto de Tesis (5), Asesor(1), sustentante (1), UI (2)

## Responsables

Mg. Carlos Alberto Deza Navarrete



---

**Ejecutor**

Dr. Ramón García Seminario



---

**Asesor**

## JURADO DICTAMINADOR

Dr. NAPOLEÓN PUÑO LECARNAQUÉ

---

PRESIDENTE

Dr. PEDRO VÉRTIZ QUEREVALÚ

---

SECRETARIO

Dr. ADÁN ALVARADO BERNUY

---

MIEMBRO

Dr. DAVID EDILBERTO SALDARRIAGA YACILA

---

MIEMBRO

Dr. LEOCADIO MALCA ACUÑA

---

MIEMBRO

## CONTENIDO

	Página
<b>RESUMEN.</b>	ix
<b>ABSTRACT.</b>	x
<b>RESUMO.</b>	xi
<b>1. INTRODUCCIÓN.</b>	12
<b>2. MARCO DE REFERENCIA DEL PROBLEMA.</b>	14
<b>2.1. Antecedentes.</b>	14
<b>2.2. Bases teórico-científicas.</b>	15
2.2.1. Las bacterias como microorganismos eficientes.	15
2.2.2. <i>Burkholderia glumae</i> , agente causal del “añublo bacterial de la panícula”.	17
2.2.3. Características del género <i>Burkholderia</i> .	19
2.2.4. Control <i>in vitro</i> de patógenos de plantas.	19
<b>2.3. Definición de términos básicos.</b>	20
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.</b>	23
<b>3.1. Localidad y periodo de ejecución.</b>	23
<b>3.2. Tipo de estudio y diseño de investigación.</b>	24
<b>3.3. Población, muestra y muestreo.</b>	24
<b>3.4. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.</b>	24
<b>3.5. Procesamiento y análisis de datos.</b>	36
<b>4. RESULTADOS.</b>	37
<b>5. DISCUSIÓN.</b>	60
<b>6. CONCLUSIONES.</b>	63
<b>7. RECOMENDACIONES.</b>	64
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>	65
<b>9. ANEXOS.</b>	72



## RESUMEN

Las plantas ofrecen un hábitat apropiado para una gran diversidad de microorganismos, los cuales interactúan con ellas, presentando una funcionalidad que va desde la patogenicidad hasta la protección de las mismas. Con el objeto de estudiar parte de esta diversidad microbiana, en plantas de *Oryza sativa* (arroz), se aislaron y caracterizaron bacterias cultivables y no cultivables asociadas a la filósfera, rizósfera; semillas sanas y semillas con síntomas de infección con *Burkholderia glumae*, además se probó la eficiencia de las bacterias cultivables en el control *in vitro* de *B. glumae*. Mediante microbiología molecular se caracterizaron 19 bacterias cultivables asociadas a semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, 13 a rizósfera, nueve a semillas sanas y siete a filósfera; en tanto que por metagenómica dirigida se caracterizaron, entre bacterias cultivables y no cultivables, 385 bacterias asociadas a filósfera, 122 a semillas con síntomas de infección con *B. glumae*, 108 a semillas sanas y 72 a rizósfera. Nueve cepas bacterianas del género *Bacillus* y una del género *Enterobacter* presentaron una fuerte inhibición en el control de *B. glumae*.

**Palabras clave:** filósfera, metagenómica, microbiología molecular, rizósfera

## ABSTRACT

The plants offer a suitable habitat for a great diversity of microorganisms, which interact among them, presenting a functionality that goes from the pathogenicity until the protection of themselves, with the object to study part of this microbial diversity, in plants of *Oryza Sativa* (rice), it was isolated and characterized the cultivable and non-cultivable bacteria associated to the rhizosphere, rhizosphere; healthy seeds and seeds with symptoms of infection with *Burkholderia glumae*, in addition, it was proved the efficiency of the cultivable bacteria in the control in vitro of *B. glumae*. By means of molecular microbiology were characterized 19 cultivable bacteria associated to seeds with symptoms of being infected with *B. glumae*, 13 to rhizosphere, 9 to healthy seeds and 7 to rhizosphere; in such that by directed metagenomic were characterized, between cultivable and non-cultivable bacteria, 385 bacteria associated to rhizosphere, 122 to seeds with symptoms of infection with *B. glumae*, 108 to healthy seeds and 72 to rhizosphere. 9 bacterial roots of the genus *Bacillus* and 1 of the genus *enterobacter* presented a strong inhibition in the control of *B. glumae*.

Keywords: rhizosphere, metagenomic, molecular microbiology, rhizosphere

## RESUMO

As plantas oferecem um habitat adequado para uma variedade ampla de microrganismos, que interagem com elas, apresentando uma funcionalidade que varia entre a patogenicidade e a proteção das mesmas. Com o objetivo de estudar parte desta diversidade microbiana, em plantas de *Oryza sativa* (arroz) foram isoladas e caracterizadas as bactérias cultiváveis e não cultiváveis associadas à filosfera e rizosfera; sementes saudáveis e sementes com sintomas de infecção por *Burkholderia glumae*, também a eficiência de bactérias cultiváveis no controle *in vitro* de *B. glumae* foi testada. Por meio de microbiologia molecular foram caracterizadas 19 bactérias cultiváveis associadas a sementes com sintomas de estarem infectadas com *B. glumae*, 13 à rizosfera, nove às sementes saudáveis e sete à filosfera; enquanto que por metagenômica dirigida foram caracterizados, entre bactérias cultiváveis e não cultiváveis, 385 bactérias associadas à filosfera, 122 a sementes com sintomas de infecção com *B. glumae*, 108 a sementes sadias e 72 à rizosfera. Nove estirpes bacterianas do gênero *Bacillus* e do gênero *Enterobacter* mostraram inibição forte no controle de *B. glumae*.

Palavras-chave: filosfera, metagenômica, microbiologia molecular, rizosfera

## 1. INTRODUCCIÓN.

*Oryza sativa* (arroz) es el segundo cereal más producido en el mundo, ocupa el cuarto lugar en Perú y en Tumbes es el principal cultivo con mayor capacidad de generar empleo.

Las plantas, como el arroz, ofrecen un hábitat apropiado para una gran diversidad de microorganismos, tales como bacterias, hongos, nemátodos, etc., los cuales interactúan con ellas, presentando una funcionalidad que va desde la patogenicidad hasta la protección de las mismas expresando una actividad que no solo es patogénica sino que también puede ser de protección a la misma planta, induciendo mecanismos de defensa o interviniendo como antagonistas naturales (péptidos antimicrobianos, control biológico de plagas y enfermedades, protección de semillas, etc.), actuando en simbiosis (fijadores de nitrógeno), produciendo enzimas, proteínas, vitaminas o metabolitos secundarios que estimulan el crecimiento de las plantas o mejorando la calidad del suelo, (Shrestha *et al.* 2016, Park *et al.* 2015, Ji *et al.* 2014, Okubo *et al.* 2014, Dieppois *et al.* 2012, Huang *et al.* 2012, Mirza y Rodrigues 2012, Pérez y Chamorro 2012, Russo *et al.* 2012, Sessitsch *et al.* 2012, Arjun y Harikrishnan 2011, Mora *et al.* 2011, Sharma *et al.* 2011 y Higa y Parr 1994).

Actualmente, el cultivo de arroz, enfrenta serios problemas de carácter fitosanitario, dentro de los cuales destaca el “añublo bacterial de la panícula” causada por *Burkholderia glumae*, que ataca a plántulas, vainas y semillas, provocando pérdidas entre 30 y 40% en la producción (SENASA 2015) y puede alcanzar el 75% en campos severamente infestados, como resultado de una reducción en peso del grano, esterilidad de flores y la inhibición de la germinación de las semillas (Ham *et al.* 2011).

Una de las estrategias que se debe utilizar, para solucionar esta problemática, es la del control biológico de los diferentes patógenos que atacan a los cultivos, en ese propósito destaca el uso de la microbiología molecular y la metagenómica dirigida, por cuanto, permiten aislar y caracterizar microorganismos provenientes de la misma planta, con mucha más rapidez y precisión que los métodos tradicionales, permitiendo plantear una alternativa

de solución no solo al problema fitosanitario, sino también al problema de seguridad ambiental y alimentaria.

A fin de solucionar la problemática formulada, se planteó la hipótesis de que la caracterización molecular de las bacterias asociadas a la filósfera, rizósfera y las semillas de arroz, y su eficiencia en el control de *Burkholderia glumae*, permite seleccionar bacterias benéficas para su control biológico.

En este contexto los objetivos de la investigación fueron: aislar y caracterizar molecularmente las bacterias asociadas a la filósfera, rizósfera y las semillas de arroz, y determinar su eficiencia en el control de *Burkholderia glumae*.

## 2. MARCO DE REFERENCIA DEL PROBLEMA.

### 2.1. Antecedentes.

Miyagawa y Takaya (2000), Cuong *et al.* (2011), Akter *et al.* (2014), Van Hop *et al.* (2014) y Chung *et al.* (2015), han podido realizar aislamientos de bacterias antagonistas nativas provenientes de la rizósfera y filósfera de plantas de arroz que han sido utilizadas para controlar diversos patógenos como: *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae*, *Rhizoctonia solani*, etc. Estos agentes de control biológico fueron aislados y caracterizados mediante herramientas moleculares dependientes de medios cultivos.

Arjun y Harikrishnan (2011), señalan que en Kerala, India; se ha generado, mediante técnicas de cultivo independiente, una librería de clones, secuenciación y análisis filogenético, estudiando la diversidad bacteriana asociada con las comunidades bacterianas de la rizósfera del arroz. Los análisis de secuencias de los clones 16S ADN ribosomal, indicaron una alta diversidad en las comunidades bacterianas de la rizósfera, la mayoría estrechamente relacionados a Proteobacterias, también una pequeña fracción de secuencias fueron altamente similares a grupos de Acidobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes.

Aslam *et al.* (2013), indican que la diversidad bacteriana en la rizósfera del arroz a diferentes estados de crecimiento, manejado bajo prácticas convencionales y orgánico, ha sido analizada utilizando enfoques basados en cultivo microbiano; esta diversidad ha sido examinada mediante construcción de librerías de metagenómica basados en el gen 16S ADN ribosomal, utilizando cebadores de reacción en cadena de la polimerasa específicos para actinobacterias y estreptomices. El estudio incluyó 132 cepas cultivables y 125 clones de librerías de genes de 16S ADN ribosomal. En los sistemas convencionales fueron 38% Proteobacteria, 22% Actinobacteria, 33% Firmicutes, 5% Bacteroidetes, y 2% Acidobacteria, mientras en el sistema con no laboreo fueron 63% Proteobacteria, 24% Actinobacteria, 6% Firmicutes, y 8% Bacteroidetes.

Riera-Ruiz *et al.* (2014), Kim *et al.* (2012), Caldera. (2010), Fang *et al.* (2009), Zhu *et al.* (2008), Maeda *et al.* (2006), Yuan (2004) y Maeda *et al.* (2004), indican que muchas herramientas de biología molecular y técnicas, incluyendo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), transcriptasa reversa - reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), LAMP-PCR, RAPD-PCR, han sido desarrolladas o están siendo utilizadas para identificar a *B. glumae*, y para detectar su presencia en tejidos de plantas. Cebadores específicos para la detección de especies relacionadas estrechamente como *B. plantarii* y *B. glumae*, han sido desarrolladas de la región espacial del ADN ribosomal 16S-23S, mediante el uso de la PCR.

## **2.2. Bases teórico-científicas.**

### **2.2.1. Las bacterias como microorganismos eficientes.**

Pérez y Chamorro (2012), manifiestan que investigaciones más comunes en ecología microbiana, han sido orientadas a las interacciones microbio-planta desde el punto de vista simbiótico y patogénico. Las bacterias endófitas colonizan el interior de los tejidos de las plantas, principalmente espacios intercelulares, raramente en espacios intracelulares y dentro de tejidos vasculares sin causar síntomas de enfermedad en la planta. La penetración en la planta puede ocurrir por estomas, heridas, áreas de emergencia de raíces laterales, siendo que estas bacterias pueden producir enzimas hidrológicas capaces de degradar la pared celular de los vegetales.

Los mismos autores establecen que, estudios moleculares sobre diversidad de bacterias endófitas han revelado una alta riqueza de filotipos que promueven el crecimiento de la planta, suprimen fitopatógenos, ayudan a remover contaminantes, solubilizan fosfato y contribuyen a la asimilación biológica del nitrógeno.

Shrestha *et al.* (2016), aislaron bacterias asociadas al cultivo de arroz, que mostraron tener potencial como agentes de control biológico para dos patógenos de arroz: *Rhizoctonia solani* y

*Burkholderia glumae*. Las bacterias correspondientes al género bacillus lograron la inhibición de los patógenos a nivel *in vitro* y a nivel de campo.

Guang-Hai *et al.* (2008), lograron aislar la bacteria *Lysobacter antibioticus*, de la rizósfera de arroz, esta mostró gran poder de inhibición contra *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (Xoo), un patógeno para el cultivo de arroz.

Russo *et al.* (2012), Sharma *et al.* (2011), Mirza y Rodrigues (2012), Mora *et al.* (2011), Dieppois *et al.* (2012), Park *et al.* (2015) y Ji *et al.* (2014), señalan que la inoculación de microorganismos benéficos en el ecosistema suelo-planta puede mejorar la calidad del suelo, la salud del suelo, el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos.

Higa y Parr (1994), refieren que los microorganismos benéficos permiten reducir el uso de agroquímicos, al ser empleados como fertilizadores biológicos como es el caso de bacterias diazotróficas y solubilizadoras de fosfatos; se usan como agentes de control biológico de insectos plaga y enfermedades de plantas; existen rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas y bacterias de importancia ambiental como las metanotróficas que son capaces de usar el metano como única fuente de carbono y energía.

Okubo *et al.* (2014) y Sessitsch *et al.* (2012), señalan que las plantas de arroz representan un hábitat para diversos microorganismos, que colonizan las partes aéreas, referidas como filósfera, así como la raíz (rizósfera). Numerosos estudios ecológicos que utilizan medios de cultivo y análisis metagenómico se han llevado a cabo para investigar estos microorganismos asociados al arroz, esta potente herramienta ha logrado dilucidar grandes interrogantes en el comportamiento de las enfermedades.



Arjun y Harikrishnan (2011), consideran que la rizósfera proporciona un nicho ecológico favorable para la mayoría de los microorganismos del suelo, generándose una actividad microbiana que ayuda en muchos procesos ecológicos y biológicos, importantes para la salud de las plantas; y que la abundancia de bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfatos y supresoras de enfermedades en la rizósfera, tiene significancia natural desde el punto de vista agronómico.

Así mismo agregan que, el conocimiento sobre la diversidad de bacterias asociadas a la rizósfera es limitado, comparado a otros componentes. Se estima que menos del 1% del total de poblaciones microbianas en medio ambiente terrestre, incluso mucho menos en medio ambiente marino, han sido aisladas con éxito en cultivo puro. La mayoría de los microorganismos que viven en la tierra resisten en cautiverio y por lo tanto muchos de ellos no pueden ser aislados por métodos basados en cultivos actuales y tradicionales.

Además refieren que el conocimiento sobre la estructura de la comunidad bacteriana asociada a la rizósfera es imprescindible para una adecuada comprensión de cómo funcionan las bacterias de manera individual y colectiva, en ello, la metagenómica puede dar respuesta a varias preguntas sobre todo con respecto a la fracción no cultivable de bacterias asociadas a la rizósfera.

### **2.2.2. *Burkholderia glumae*, agente causal del “añublo bacterial de la panícula”.**

Madhaiyan *et al.* (2008) y Ham *et al.* (2011), señalan que la bacteria *B. glumae*, causante del “añublo bacterial de la panícula” (anteriormente *Pseudomonas glumae*) fue descrita por primera vez en Japón como causante de la pudrición del grano, pudrición de la vaina y pudrición de plántulas, dependiendo de las etapas de crecimiento del arroz. Otras especies de

*Burkholderia*, como *B. gladiole*, también causan pudriciones de semilla y “añublo bacterial de la panícula” en arroz, sin embargo, estas bacterias tienden a ser aisladas con menos frecuencia a partir de plantas de arroz infectadas y muestran menos virulencia en comparación con *B. glumae*.

También indican que, en 1992, siete especies de *Pseudomonas*, fueron reclasificadas al nuevo género *Burkholderia*. El tipo de cepa, *Burkholderia cepacia*, fue identificado por primera vez como un patógeno de plantas causando enfermedad de la “piel agria en cebolla”. Las bacterias patógenas del arroz, *Pseudomonas glumae* y *P. plantarii*, se transfirieron, del género *Pseudomonas* al género *Burkholderia* en 1994. Desde entonces, el género *Burkholderia* ha crecido considerablemente con la incorporación de otras especies bacterianas al género y con la identificación de nuevas especies en el género.

Los mismos autores manifiestan que, en el año 2003, había más de 30 especies en el género *Burkholderia*, en el 2008, más de 40 especies descritas fueron listadas en el género y que actualmente existen más de 60 especies. Dentro del género *Burkholderia*, se encuentran cepas patógenas pero también promotoras del crecimiento, de mecanismos de fijación de nitrógeno y de producción de hormonas de plantas. La especie *B. glumae* es uno de los mayores miembros patógenos de plantas, dentro de este género, se incluye especies patógenas para los seres humanos y los animales y especies no patógenas e incluso asociadas benéficamente con las plantas.

Ham *et al.* (2011), expresan que la reducción del rendimiento de arroz, causada por *B. glumae*, puede alcanzar el 75% en campos severamente infestados, como resultado de una reducción en peso del grano, esterilidad de flores y la inhibición de la germinación de las semillas.

### 2.2.3. Características del género *Burkholderia*.

Ham *et al.* (2011), manifiestan que *B. glumae*, es una bacteria gram negativa, aeróbica y de gran motilidad, con dos a cuatro flagelos polares, en forma de barras con un rango de tamaño de 0,5 – 0,7 x 1,5 – 2,5  $\mu\text{m}$  en grosor y longitud, respectivamente; es capaz de crecer a temperaturas de 11 °C a 40 °C (óptimo de 30 °C – 35 °C) y se estima que tiene un ADN total con 68,2 % de guanina y citosina.

Lim *et al.* (2009), indican que el genoma de *B. glumae*, tiene dos cromosomas y cuatro plásmidos. *Chr* 1: contiene 3 906 529 pb (68,11% de contenido GC), y 3 290 secuencias codificantes (CDS), 144 pseudogenes, tres operones de ARNr y 56 ARNt. *Chr* 2: tiene 2 827 355 pb (68,76% de contenido GC), y 2 079 secuencias codificantes (CDS), 192 pseudogenes, dos operones ARNr, y ocho ARNt.

Chen *et al.* (2012), Karki *et al.* (2012), Goo *et al.* (2010), Karki (2010) y Devescovi *et al.* (2007), reportan que, en *Burkholderia glumae*, la producción de muchos factores de virulencia, incluyendo el toxoflavin {1, 6 – dimethylpyrimido [5, 4 - E] - 1, 2, 4 – triazine -5, (1H, 6H) - dione}, un pigmento amarillo esencial para la patogenicidad, es dependiente del sistema de “quórum sensing” (QS).

### 2.2.4. Control *in vitro* de patógenos de plantas.

Huang *et al.* (2012), se refieren a muchas especies de *Bacillus* como habitantes naturales de la filósfera y rizósfera de las plantas, las cuales tienen la capacidad para producir enzimas, antibióticos, proteínas, vitaminas o metabolitos secundarios, que muestran la capacidad para promover crecimiento o inducir los mecanismos de defensa de la planta; y consideran que muchas especies de *Bacillus* son importantes candidatos como agentes de control biológico de plagas y enfermedades de plantas, protectores de semillas y probióticos. Las especies de *Bacillus*

han sido reportadas como supresoras de diversas enfermedades fúngicas y bacterianas en plantas.

Así mismo señala que, especies de *Bacillus* identificadas genéticamente en base al gen 16S ADNr han inhibido en laboratorio exitosamente al “cáncer bacteriano de los cítricos”, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. citri y en campo definitivo la destrucción de la colonización y formación de *biofilm*, formadas sobre las hojas.

### 2.3. Definición de términos básicos.

- **Aislamiento bacteriano.**

“... purificación e identificación son los primeros pasos para estudios bacteriológicos. El aislamiento se realiza para obtener cultivos puros de bacterias” (Ruangpan y Tendencia 2004, 5).

- **Amplicon.**

“Es un fragmento de ADN o ARN que es la fuente y/o el producto de amplificación de eventos de replicación. Se puede formar usando diversos métodos, como: Reacciones en cadena de la polimerasa (PCR), reacción en cadena de la ligasa (LCR), etc.; se refiere a la producción de una o más copias de un fragmento genético o secuencia” (Alzueta y Soler.)

- **Antagonismo.**

“También llamado amensalismo, se da cuando una población microbiana produce una sustancia que es inhibidora para otras poblaciones” (Atlas y Bartha 2002, 82).

- **Biotecnología molecular.**

“Se trata de un grupo de tecnologías que comparten dos características comunes, que trabajan con células vivas y sus moléculas y que tienen una amplia gama de usos prácticos para mejorar nuestras vidas” (Keener *et al.* 1990, 1).

- ***Burkholderia glumae*.**

“Es el principal agente causal del añublo bacterial de la panícula (ABP). Los síntomas del ABP presentes en el cultivo del arroz son: panículas erectas con pérdidas significativas en el rendimiento por el vaneamiento o reducción del peso del grano, decoloración del grano tomando un color pajizo, raquis verde, hoja bandera sana de un color verde intenso, esterilidad de las flores e inhibición en la germinación de la semilla” (Galvis y Carrillo 2014, 34).

- **Electroforesis.**

“Constituye parte importante del procedimiento rutinario del análisis de los ácidos nucleicos y proteínas. Y así como el microscopio permite visualizar microorganismos y estructuras similares, la electroforesis nos ayuda a observar los ácidos nucleicos y proteínas al final del procedimiento. El principio básico de la electroforesis consiste en la migración de las moléculas a través de un gel u otro tipo de matriz de naturaleza porosa, en el cual, por acción de un campo eléctrico, serán separadas de acuerdo a su tamaño o peso molecular (Yábar 2003, 8).

- **Filósfera.**

“Se refiere a la superficie de la hoja o al total de superficie de la parte aérea de una planta como un hábitat para los microorganismos que pueden ser patógenos o no patógenos para la planta” (Vorholt 2012, 828).

- **Metagenómica.**

“Es el estudio del conjunto de genomas de un determinado entorno (metagenoma) directamente a partir de muestras de medio ambiente, sin necesidad de aislar y cultivar esas especies” (Kim *et al.* 2013, 102).

- **Microbiología molecular.**

“... La aplicación de técnicas de biología molecular al estudio de la microbiología del suelo ha representado un gran avance en el conocimiento de los ecosistemas. El reconocimiento de la presencia de una gran diversidad de microorganismos en suelos, que resultaban totalmente desconocidos, porque no se habían obtenido en cultivos

de laboratorio, es sólo el comienzo de una nueva era en la microbiología molecular de suelos (Nogales 2005, 41).

- **NCBI.**

“El Centro Nacional para la Información Biotecnológica o National Center for Biotechnology Information (NCBI) es parte de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos. Es una importante fuente de información de biología molecular. Almacena y constantemente actualiza la información referente a secuencias genómicas en GenBank, artículos científicos referentes a biomedicina, biotecnología, bioquímica, genética y genómica en PubMed. El NCBI ofrece además algunas herramientas bioinformáticas para el análisis de secuencias de ADN, ARN y proteínas, siendo BLAST una de las más usadas” (NCBI Resource Coordinators 2015, 1).

- **PCR**

“La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica *in vitro* utilizada para amplificar enzimáticamente una región específica de ADN que se encuentra entre dos regiones de ADN de secuencia conocida” (Somma y Querci 2006, 3).

- **Rizósfera.**

“Es una zona biológicamente activa del suelo alrededor de las raíces de las plantas en donde tiene lugar una interacción dinámica con los microorganismos” (Philippot *et al.* 2013, 1).

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS.

#### 3.1. Localidad y periodo de ejecución.

El estudio comprendió dos fases: campo y laboratorio.

La fase de campo se desarrolló en una parcela cultivada con arroz de la variedad Tinajones, ubicada en el sector la variante del Distrito de San Pedro de Los Incas (Corrales), Tumbes - Perú, geográficamente ubicada a 558 147,50 m E y 9 603 173,14 m S; en donde se seleccionaron plantas sanas y con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, de las que se obtuvieron las muestras.



**Figura 1. Ubicación de la parcela experimental (Imagen de Google Earth 2015).**

La fase de laboratorio se desarrolló en las instalaciones de la empresa IncaBiotec SAC., en donde se procesaron las muestras para su correspondiente análisis.

### **3.2. Tipo de estudio y diseño de investigación.**

De acuerdo a su fin, la investigación fue de tipo descriptiva (Tresierra 2 000), porque consistió en la caracterización de las bacterias asociadas a la filósfera, rizósfera y semillas de arroz.

De acuerdo al diseño de contrastación, fue experimental (Tresierra 2 000), porque se orientó a medir la eficiencia de las propiedades antagónicas *in vitro* de las bacterias cultivables asociadas a la filósfera, la rizósfera y a las semillas contra la infección causada por *B. glumae* sobre estos tejidos.

Se utilizó el diseño experimental propiamente dicho con pre-prueba, post-prueba y un grupo control (Alvitres 2 000).

### **3.3. Población, muestra y muestreo.**

#### **3.3.1. Población y muestra.**

Estuvo compuesta por las bacterias presentes en la filósfera, rizósfera, en las semillas sanas y con síntomas de infección con *B. glumae*, de las plantas de arroz seleccionadas.

#### **3.3.2. Muestreo.**

Se realizó una prospección en zigzag dentro de la parcela seleccionada y de las plantas de arroz elegidas, se obtuvieron partes de filósfera y rizósfera, así como de semillas sanas y con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, de las cuales se obtuvieron muestras.

### **3.4. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.**

El desarrollo de cada fase (campo y laboratorio), comprendió:

#### **3.4.1. Fase de campo.**

Se realizó una prospección de campos arroceros para identificar una parcela con plantas sanas y con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, de las que se recolectaron muestras



de filósfera, rizósfera, semillas sanas e infectadas, que fueron depositadas en bolsas ziploc y puestas en *coolers* con *gelpack* a 5 °C aproximadamente, para luego llevarlas al laboratorio.

### **3.4.2. Fase de laboratorio.**

Las muestras obtenidas en campo fueron llevadas a las instalaciones de la empresa IncaBiotec SAC., para su procesamiento, análisis correspondiente y posterior envío a secuenciar. Los protocolos que se han desarrollado en esta fase fueron proporcionados por dicha empresa y comprendió lo siguiente:

#### **a. Microbiología molecular.**

- **Aislamiento.**

Las muestras de filósfera, rizósfera, semillas sanas y semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, fueron depositadas dentro de un tubo falcon de 50 ml conteniendo *buffer tween* al 0,1%, y se colocaron en un *shaker*, para su inmediata agitación, a 130 rpm por 24 horas.

Los sobrenadantes obtenidos en los tubos falcon que contenían las muestras, fueron utilizados como soluciones madre para realizar diluciones decimales, las cuales fueron depositadas en tubos eppendorf.

Paralelamente se plaquearon los medios de cultivo en placas petri, donde se adicionaron 75 µl de cada dilución y con la ayuda de un esparcidor metálico autoclavado se extendió por toda la placa.

Las placas fueron dejadas a temperatura ambiente por 24 horas, para el desarrollo de microorganismos. Luego se realizaron tres purificaciones de las colonias bacterianas en nuevos medios de cultivo.

- **Extracción de ADN.**

Las colonias bacterianas puras, obtenidas de los diferentes medios de cultivo, se pusieron a crecer por 48 horas, en tubos de 1,5 ml conteniendo LB caldo; para luego ser centrifugadas a 10 000 rpm por dos minutos.

El sobrenadante fue descartado y al sedimento se le realizó la extracción de ADN bacteriano mediante el método del shock térmico, según se indica:

1. A los sedimentos de cada colonia pura bacteriana cultivada, se les resuspendió en 500 µl de solución A (PBS 1X) y fueron vortexeados por 1 minuto. Se microcentrifugaron a 10 000 rpm por dos minutos.
2. Se eliminaron los sobrenadantes y se resuspendieron los sedimentos en 200 µl de solución B (TE 1X). Se llevaron a ebullición por 10 minutos e inmediatamente se colocaron sobre hielo por cinco minutos.
3. Se microcentrifugaron los sobrenadantes a una velocidad de 10 000 rpm, por un minuto, y se transfirieron a nuevos tubos de 1,5 ml.
4. Se hicieron diluciones decimales de todos los sobrenadantes (para PCR).
5. Se agregó 1 µl de ARNasa a todas las diluciones y se incubó a 65 °C por 15 minutos, obteniendo así las muestras de ADN de cada colonia pura bacteriana.
6. Finalmente se almacenaron las muestras de ADN a 20 °C, quedando listas para ser utilizadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en la electroforesis y en la secuenciación.

**Nota:** Se consideró un control negativo de extracción de ADN.

- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).**

Para comprobar la presencia de ADN bacteriano cultivable, en las muestras de filósfera, rizósfera, semillas sanas y con síntomas de infección con *B. glumae*, se realizó una PCR dirigida a la amplificación del gen 16S ADN ribosomal con los primers universales 27-f, que tiene sentido hacia adelante y 1492-r, que tiene sentido hacia atrás (Tabla 1).

**Tabla 1. Secuencia nucleotídica de los primers 27- f y 492-r para amplificar el gen 16S ADN.**

Primers	Sentido	Secuencia nucleotídica
27- f	Forward	5' – AGAGTTTGATCMTGGCTC - 3'
1492-r	Reverse	5' – TACGGYTACCTTGTTACGACTT - 3'
M: Adenina o Citosina		Y: Timina o Citosina.

La identificación de la presencia o ausencia de la bacteria patógena *B. glumae*, se realizó mediante la PCR dirigida a la amplificación del gen *gyrB* de la subunidad D de la girasa con primers específicos como son el Glu-Fw, que tiene sentido hacia adelante y el Glu-Rw, que tiene sentido hacia atrás (Tabla 2).

**Tabla 2. Secuencia nucleotídica de los primers Glu-Fw y Glu-Rw dirigidos al gen *gyrB* de la subunidad D de la girasa.**

Primers	Sentido	Secuencia nucleotídica
Glu-Fw	Forward	5'- GAAGTGTCGCCGATGGAG - 3'
Glu-Rw	Reverse	5'- CCTTCACCGACAGCACGCAT - 3'

Para la amplificación del gen 16S ADN ribosomal y del gen *gyrB* de la subunidad D de la girasa se utilizó un mix de reacción (Tabla 3).

**Tabla 3. Composición del mix de reacción para la amplificación del gen 16S ADN ribosomal y del gen gyrB de la subunidad D de la girasa.**

Insumo	Volumen (µl)
AUP	16,2
Buffer	2,5
Cl <sub>2</sub> Mg	2,5
DNTPs	0,5
Iniciador Fower	0,6
Iniciador Rever	0,6
Taq polimerasa	0,1
ADN (*)	2 µl por cada muestra.
<b>Total</b>	<b>25</b>

Volumen de reacción de 23 µl para muestras, incluyendo un control (+) de extracción más un control (-) de PCR y un control (-) de extracción.

(\*) Se adiciona en el momento de desarrollar el protocolo de replicación artificial para la amplificación.

Se desarrollaron protocolos de replicación artificial para la amplificación del gen 16S ADN ribosomal y del gen gyrB de la subunidad de la D de la girasa (Tablas 4 y 5), los mismos que sirvieron para la obtención final de los amplicones.

**Tabla 4. Protocolo de replicación artificial para la amplificación del gen 16S ADN ribosomal.**

Fase	Tiempo (min.)	Ciclos	Temperatura (°C)
Desnaturalización del ADN	1	35	94
Hibridación	1	35	58
Polimerización	1	35	72

**Tabla 5. Protocolo de replicación artificial para la amplificación del gen *gyrB* de la subunidad D de la girasa.**

<b>Fase</b>	<b>Tiempo (s)</b>	<b>Ciclos</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
Desnaturalización del ADN	45	40	94
Hibridación	45	40	55
Polimerización	45	40	72

- **Electroforesis.**

Los amplicones de las bacterias cultivables asociadas a la filósfera, rizósfera, semillas sanas y semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, obtenidos en la PCR, fueron observados en gel de migración, que fue preparado mezclando 1,8 g de agarosa con 120 ml de TAE, cuya solución fue calentada hasta que la agarosa se disolvió completamente, para luego agregar 6 µl de bromuro de etidio, se dejó enfriar por algunos minutos, se depositó la solución en una cubeta de electroforesis, se colocó la peineta de electroforesis en el extremo negativo del gel, con el propósito de obtener unos pocillos (después que la solución se solidificó). Se mezclaron 2 µl del tampón de depósito (azul de bromofenol) con 8 µl de los amplicones, la mezcla se colocó en los pocillos, luego de unos minutos se ubicó el gel sobre el transluminador y se observó la migración de moléculas de ADN. Para determinar el tamaño del amplicon se utilizó un marcador de peso molecular.

- **Secuenciación.**

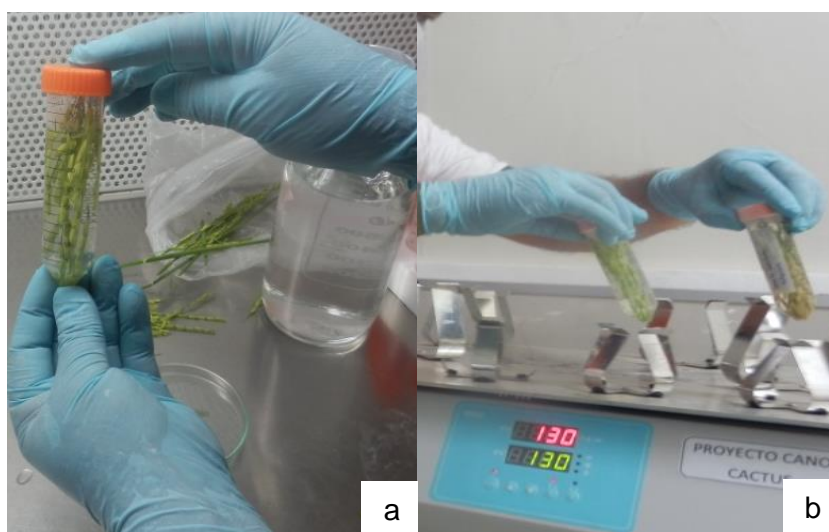
Los amplicones obtenidos en la PCR, de las bacterias cultivables asociadas a la filósfera, rizósfera, semillas sanas y con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, se enviaron a secuenciar. Las bandas fuertes y

medianamente fuertes fueron previamente diluidas en agua ultra pura.

## b. Caracterización molecular por metagenómica dirigida.

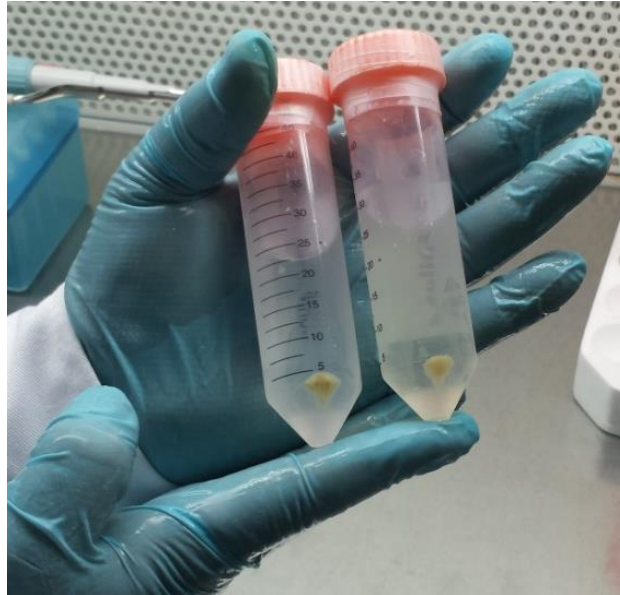
### • Extracción de ADN total.

Las muestras de filósfera, rizósfera, semillas sanas y semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* se colocaron en tubos Falcon de 50 ml conteniendo *buffer tween* al 0,1%, los tubos fueron sellados con papel de aluminio y parafilm, luego se agitaron en un *shaker* a 130 rpm/24 horas (Figura 2).



**Figura 2. a) Muestras de semillas de arroz en tubos Falcon de 50 ml y b) *shaker*.**

Las muestras se centrifugaron a 14 000 g/15 minutos, se eliminó el sobrenadante (Figura 3), los sedimentos fueron lavados con agua destilada, se eliminó el sobrenadante para luego resuspenderlos en 500  $\mu$ l de agua destilada autoclavada y fueron depositados en tubos de 1,5 ml, quedando de esta manera preparadas las muestras para la extracción de ADN.



**Figura 3. Muestras después de ser centrifugadas a 14 000 g/15 minutos.**

Para la obtención del ADN total, se utilizó el kit de extracción de ADN *Power Soil* (Figura 4), que consta de seis soluciones, en los siguientes pasos:



**Figura 4. Kit de extracción de ADN total *Power Soil*.**

1. Se agregó 0,25  $\mu$ l de la muestra en los tubos *PowerBead*.
2. Se vortexeo suavemente la muestra hasta homogenizar
3. Se agregó 60  $\mu$ l de la solución C1, se verificó que no se encuentre precipitada, se vortexeo a máxima velocidad por 10 minutos.

4. Se centrifugó a 10 000 g por 30 segundos.
5. Se transfirió 400 µl del sobrenadante a los tubos *Collection* de 2 ml, se agregaron 250 µl de la solución C2 y se vortexeó por 5 segundos.
6. Se incubó a 4 °C por 5 minutos y se centrifugó los tubos a temperatura ambiente a 10 000 g por un minuto.
7. Se transfirieron 600 µl del sobrenadante a los *collection tube* de 2 ml tratando de no llevar restos de pellet, para luego agregar 200 µl de solución C3 y vortexear brevemente.
8. Se incubó a 4 °C por cinco minutos y luego se centrifugó, a temperatura ambiente, a una velocidad de 10 000 g por un minuto.
9. Se transfirieron 750 µl del sobrenadante a tubos de 2 ml tratando de no llevar restos de pellet, previa agitación, se agregaron 1 200 µl de solución C4, al sobrenadante y se vortexeó por cinco segundos.
10. Tratando de no llevar restos de pellet, se cargó 650 µl del sobrenadante (mezcla de los 750 µl del sobrenadante con los 1 200 µl de solución C4), dentro de los *spin filter* y se centrifugó a temperatura ambiente, a una velocidad de 10 000 g por un minuto, eliminando el filtrado.
11. Se cargó nuevamente 650 µl del sobrenadante, en el *spin filter* y se centrifugó a 10 000 g, a temperatura ambiente, por un minuto; para luego eliminar el filtrado.
12. Se realizó una tercera y última carga con el sobrenadante restante, se centrifugó a temperatura ambiente, a una velocidad de 10 000 g por un minuto, para finalmente eliminar el filtrado.
13. Se agregó 500 µl de la solución C5 al *spin filter* y se centrifugó a 10 000 g, a temperatura ambiente, por



30 segundos; para luego descartar lo filtrado. Seguidamente se centrifugó a temperatura ambiente a 10 000 g por un minuto.

14. Con cuidado, se ubicó el filtro en un nuevo tubo para evitar la contaminación de las muestras.
15. Se agregó 100 µl de la solución C6 al filtro, se centrifugó a temperatura ambiente a 10 000 g por 30 segundos y se descartaron los filtros.
16. Finalmente se almacenaron las muestras de ADN a 20 °C, quedando listas para la PCR, electroforesis y secuenciación.

**Nota:** El protocolo puede verificarse en el siguiente enlace <https://mobio.com/media/wysiwyg/pdfs/protocols/12888.pdf>

- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).**

Para comprobar la presencia de ADN bacteriano total, es decir cultivable y no cultivable, en las muestras de filósfera, rizósfera, semillas sanas e infectadas con *B. glumae*, se realizó una PCR, de manera similar a lo que se hizo en microbiología molecular (Tabla 1), es decir que estuvo dirigida a la amplificación del gen 16S ADN ribosomal con los primers universales 27-f y el 1492-r.

Con el fin de identificar, en las muestras, la presencia o ausencia de la bacteria patógena *B. glumae*, se realizó una PCR dirigida a la amplificación del gen *gyrB* de la subunidad D de la girasa con primers específicos, como son el Glu-Fw y el Glu-Rw, de forma análoga a lo que se hizo para microbiología molecular (Tabla 2).

Para la amplificación del gen 16S ADN ribosomal y del gen *gyrB* de la subunidad D de la girasa, se utilizaron mix de reacción afines a lo considerado en microbiología molecular (Tabla 3), variando solo en lo que se refiere a

la cantidad de muestras, tal como se indica en las tablas 6 y 7 respectivamente.

**Tabla 6. Composición del mix de reacción para la amplificación del gen 16S ADN ribosomal.**

Insumo	Volumen (µl)	Muestras	Volumen (µl)
AUP	16,2	7	113,4
Buffer	2,5	7	17,5
Cl <sub>2</sub> Mg	2,5	7	17,5
dNTPs	0,5	7	3,5
Iniciador Fower	0,6	7	4,2
Iniciador Rever	0,6	7	4,2
Taq polimerasa	0,1	7	0,7
ADN (*)	1 µl por cada muestra		
Total	24		161

Volumen de reacción de 24 µl para siete muestras, incluyendo un control (+) de extracción, más un control (-) de PCR y un control (-) de extracción.

(\*) Se adiciona en el momento de desarrollar el protocolo de replicación artificial para la amplificación.

**Tabla 7. Composición del Mix de reacción para la amplificación del gen gyrB de la subunidad D de la girasa.**

Insumo	Volumen (µl)	Muestras	Volumen (µl)
AUP	16,2	5	81
Buffer	2,5	5	12,5
Cl <sub>2</sub> Mg	2,5	5	12,5
dNTPs	0,5	5	2,5
Iniciador Fower	0,6	5	3
Iniciador Rever	0,6	5	3
Taq polimerasa	0,1	5	0,5
ADN (*)	1 µl por cada muestra		
Total	24		115

Volumen de reacción de 24 µl para cinco muestras, incluyendo un control (+) de extracción, más un control (-) de PCR y un control (-) de extracción.

(\*) Se adiciona en el momento de desarrollar el protocolo de replicación artificial para la amplificación.

Los protocolos de replicación artificial para la amplificación del gen 16S ADN ribosomal y del gen *gyrB* de la subunidad D de la girasa, son los mismos que se desarrollan para microbiología molecular y que se detallan en las Tablas 4 y 5. De esta manera se obtuvieron los amplicones que se manejaron en la electroforesis y que se enviaron a secuenciar.

- **Electroforesis.**

Los amplicones de las bacterias cultivables y no cultivables asociadas a la filósfera, rizósfera, semillas sanas y semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, obtenidos en la PCR, fueron observados en gel de migración, que fue desarrollado siguiendo el mismo protocolo que se utilizó para el caso de microbiología molecular.

- **Secuenciación.**

El ADN obtenido de las bacterias cultivables y no cultivables, asociadas a la filósfera, rizósfera, semillas sanas y semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, se enviaron a secuenciar. Las bandas fuertes y medianamente fuertes fueron previamente diluidas en agua ultra pura.

**c. Antagonismo *in vitro*.**

Esta prueba consistió en esparcir 70 µl de la muestra de semillas con síntomas de estar infectadas con *Burkholderia glumae* (bacterias patógenas) en 40 placas petri que contenían medio de cultivo LB agar; 24 horas después, 8 µl de las 10 cepas bacterianas antagonicas, nueve pertenecientes al género *Bacillus* y una al género *Enterobacter*, fueron colocadas sobre discos de papel filtro estéril, estos filtros se ubicaron en las placas petri que tenían

las bacterias patógenas en crecimiento; 24 horas y 48 horas después se observó el diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano, mediante lo cual se determinó la eficiencia en el control de *B. glumae*. Se hicieron tres repeticiones por cepa bacteriana con su respectivo control.

### 3.5. Procesamiento y análisis de datos.

El análisis de las secuencias obtenidas, por microbiología molecular, de las bacterias cultivables, se realizó mediante el uso de una herramienta de acceso libre en el internet llamada Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) que se enlaza con el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), quien tiene a disposición las secuencias génicas de los organismos existentes, y al cual se accedió mediante el siguiente enlace: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/>

Para el análisis de la metagenómica se utilizó el Software MG-RAST (Metagenomic Rapid Annotations using Subsystems Technology) un servidor de aplicaciones web de código abierto que realiza el análisis filogenético y funcional de metagenomas, y al cual se accedió mediante el siguiente enlace: <http://metagenomics.anl.gov/>

Para determinar la eficiencia en el control biológico de *B. glumae*, se utilizó la Tabla 8.

**Tabla 8. Escala de eficiencia en el control biológico de *Burkholderia glumae*.**

DIÁMETRO DE INHIBICIÓN	CÓDIGO	CONDICIÓN DE LA INHIBICIÓN
>10 mm	+++	Inhibición fuerte
2 – 10 mm	++	Inhibición moderada
>2mm	+	Inhibición débil

**Fuente:** Proporcionado por la empresa IncaBiotec SAC.

## 4. RESULTADOS.

### 4.1. Caracterización molecular de las bacterias cultivables asociadas a la planta de arroz, mediante microbiología molecular.

Se caracterizaron 48 bacterias en total; de las cuales 19 se encuentran asociadas a las semillas de arroz con síntomas de estar infectadas con *Burkholderia glumae*, entre estas últimas, destacaron las especies del género *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (Tabla 9).

**Tabla 9. Bacterias cultivables asociadas a las semillas de arroz con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, caracterizadas mediante el gen 16S ARN ribosomal.**

N°	BACTERIAS CULTIVABLES	REFERENCIA (*)	CODIGO DE ACCESIÓN
1	<i>Burkholderia</i> sp. S5.2	Biochemical and molecular characterization of diazotrophic bacteria from the semi-arid plant species <i>Agave sisalana</i>	KR094773.1
2	<i>Pseudomonas</i> sp. Fa27	Epiphytic microorganisms on strawberry plants ( <i>Fragaria ananassa</i> cv. Elsanta): identification of bacterial isolates and analysis of their interaction with leaf surfaces	AY131221.1
3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> strain IPR-Pv689	Polyphasic approach for the characterization of rhizobial symbionts effective in fixing N (2) with common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	JN208900.1
4	<i>Pseudomonas</i> sp. VBRP11	<i>Pseudomonas</i> sp. partial 16S rRNA gene, strain VBRP11	HE978359.1
5	<i>Pseudomonas putida</i> strain SLY10	Direct Submission	KP993215.1
6	<i>Acinetobacter</i> sp. DH59-2	Direct Submission	EU260274.1
7	<i>Klebsiella variicola</i> strain DSM 15968	<i>Klebsiella variicola</i> , a novel species with clinical and plant-associated isolates.	CP010523.1
8	Uncultured <i>Lysobacter</i> sp. clone T312B3	Modifications of bacterial populations in anthracene contaminated soil	HM438546.1
9	<i>Erwinia soli</i> strain Ew03	<i>Erwinia soli</i> sp. nov., a bacterium isolated from soil of a ginseng field	EF540893.1
10	<i>Pseudomonas oryzae</i> habitans	Bacteria detection from in vitro cultures of <i>Ipomoea batatas</i> 'sweet potato' by molecular methods	KF192618.1
11	<i>Pseudomonas</i> sp. CC-1XP7	Direct Submission	KR067597.1
12	<i>Pseudomonas oryzae</i> habitans	Flacherie disease of Silkworm	AB727359.1
13	<i>Erwinia</i> sp. bE44	Weathering-associated bacterial strains isolated from rhizosphere and bulk soil rich-in-potassium	JQ612529.1
14	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain GN31b	Cytotoxicity of silver nanoparticle in drinking water isolates	KR083051.1
15	<i>Acinetobacter</i> sp. JF32	Genetic diversity and phylogeny of antagonistic bacteria against tomato gray mold caused by <i>Botrytis cinerea</i> isolated from tomato rhizosphere.	KJ548881.1
16	<i>Acinetobacter schindleri</i> strain XFB-BO	Direct Submission	KC429643.1
17	<i>Acinetobacter</i> sp. F19 (2011)	Bacterial Diversity of Magnetite Mine Drainage	HQ652600.1
18	<i>Acinetobacter</i> sp. TDSAS2-34	Study of Prokaryotic Diversity of Selected Niches of Western Ghats, India	GQ284531.1
19	Uncultured <i>bacterium</i> clone R4J7T4	Direct Submission	GQ468003.1

(\*) Para obtener mayor información sobre la referencia ingrese al siguiente enlace: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> y digite el código de acceso de cada bacteria cultivable.

Trece bacterias cultivables se encontraron asociadas a la rizósfera del arroz, entre las cuales sobresalieron las especies de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Tabla 10).

**Tabla 10. Bacterias cultivables asociadas a la Rizósfera del arroz, caracterizadas mediante el gen 16S ARN ribosomal.**

N°	BACTERIAS CULTIVABLES	REFERENCIA (*)	CÓDIGO DE ACCESIÓN
1	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i> strain LMG	Polyphasic study of Chryseobacterium strains isolated from diseased aquatic animals	NR_115236.1
2	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3	Direct Submission	CP010586.1
3	<i>Bacillus pumilus</i> strain AL-41	Direct Submission	KC844766.1
4	<i>Enterobacter asburiae</i> strain 35734	Direct Submission	CP011591.1
5	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3 plasmid p1	Genome sequence of <i>Bacillus megaterium</i> Q3	CP010587.1
6	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3	Genome sequence of <i>Bacillus megaterium</i> Q3	CP010587.1
7	<i>Bacillus aryabhatai</i> strain N6	Diversity of OP degrading bacteria isolated from various agricultural soil samples of Burdwan District, West Bengal, India	KR080502.1
8	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3,	Genome sequence of <i>Bacillus megaterium</i> Q3	CP010587.1
9	<i>Acinetobacter</i> sp. TDSAS2-27	Study of Prokaryotic Diversity of Selected Niches of Western Ghats, India	GQ284530.1
10	<i>Pseudomonas</i> sp. BJ-12	Direct Submission	GQ280022.1
11	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain SLG510A3-8	Direct Submission	CP011854.1
12	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain SLG510A3-9	Direct Submission	CP011854.1
13	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain GN31b	Direct Submission	KR083051.1

(\*) Para obtener mayor información sobre la referencia ingrese al siguiente enlace: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> y digite el código de accesoión de cada bacteria cultivable.

Nueve bacterias cultivables se encontraron asociadas a las semillas sanas de arroz, entre las que destacaron las especies de los géneros *Bacillus* y *Pantoea* (Tabla 11).

**Tabla 11. Bacterias cultivables asociadas a las de semillas sanas de arroz, caracterizadas mediante el gen 16S ARN ribosomal.**

N°	BACTERIA CULTIVABLE	REFERENCIA (*)	CÓDIGO DE ACCESIÓN
1	<i>Uncultured bacterium</i> clone R4J7T4	Direct Submission	GQ468003.1
2	<i>Pantoea</i> sp. MSSRF QS92	Direct Submission	KJ877654.1
3	<i>Pantoea ananatis</i>	A new leaf blight of rice caused by <i>Pantoea ananatis</i> in India	JF756691.1
4	<i>Pantoea ananatis</i>	A new leaf blight of rice caused by <i>Pantoea ananatis</i> in India	JF756691.2
5	<i>Bacillus pumilus</i> strain AL-41	Direct Submission	KC844766.1
6	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain ICBB 200	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> as plant inoculant	KP681701.2
7	<i>Pseudomonas</i> sp. CC-1XP7	Direct Submission	KR067597.1
8	<i>Uncultured bacterium</i> clone 68-9BM	Direct Submission	HQ143321.1
9	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3 plasmid p1	Genome sequence of <i>bacillus megaterium</i> Q3	CP010587.1

(\*) Para obtener mayor información sobre la referencia ingrese al siguiente enlace: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> y digite el código de accesoión de cada bacteria cultivable.

Siete bacterias cultivables se encontraron asociadas a la filósfera del arroz, entre las cuales sobresalieron especies *Uncultured*, es decir que a un no han sido plenamente identificadas (Tabla 12).

**Tabla 12. Bacterias cultivables asociadas a la filósfera del arroz, caracterizadas mediante el gen 16S ARN ribosomal.**

N°	BACTERIAS CULTIVABLES	REFERENCIA(*)	CÓDIGO DE ACCESIÓN
1	<i>Uncultured bacterium</i> clone SHCB0588	Field-rice roots host diverse endophyte communities, which are dominated by nitrogen-fixing <i>Enterobacter</i> strains	JN697822.1
2	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain ICBB 200	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> as plant inoculant	KP681701.2
3	<i>Enterobacter asburiae</i> strain 35734	Direct Submission	CP012162.1
4	<i>Uncultured bacterium</i> clone SHCB1150	Field-rice roots host diverse endophyte communities, which are dominated by nitrogen-fixing <i>Enterobacter</i> strains	N698215.1
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Direct Submission	AP014950.1
6	<i>Uncultured bacterium</i> clone 1.2	16S rRNA gene sequences from bacteria associated with adult <i>Anopheles darlingi</i> (Diptera: Culicidae) mosquitoes	EF179807.1
7	<i>Pantoea</i> sp. LS-123	Soil and genetic effect on cultivable rice endophytes	KR067595.1

(\*) Para obtener mayor información sobre la referencia ingrese al siguiente enlace: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> y digite el código de accesoión de cada bacteria cultivable.

#### 4.2. Caracterización molecular de bacterias cultivables y no cultivables asociadas a la planta de arroz, mediante metagenómica dirigida.

En total se caracterizaron 687 especies bacterianas entre cultivables y no cultivables, de las cuales 385 se encuentran asociadas a la filósfera, 122 a las semillas con síntomas de estar infectadas con *Burkholderia glumae*, 108 a las semillas sanas y 72 a la rizósfera (Figura 5).

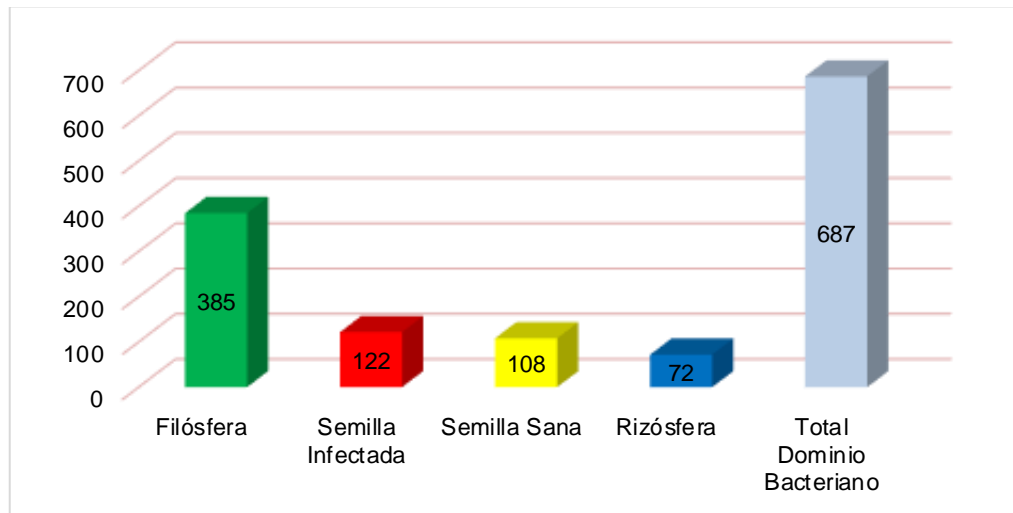


Figura 5. Distribución total del dominio bacteriano en la planta de arroz.

#### 4.3. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera.

La distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera, según la Tabla 14 del anexo, fue de 385 especies, agrupadas en 220 géneros, 125 familias, 59 órdenes, 29 clases y 13 filum (Figura 6).

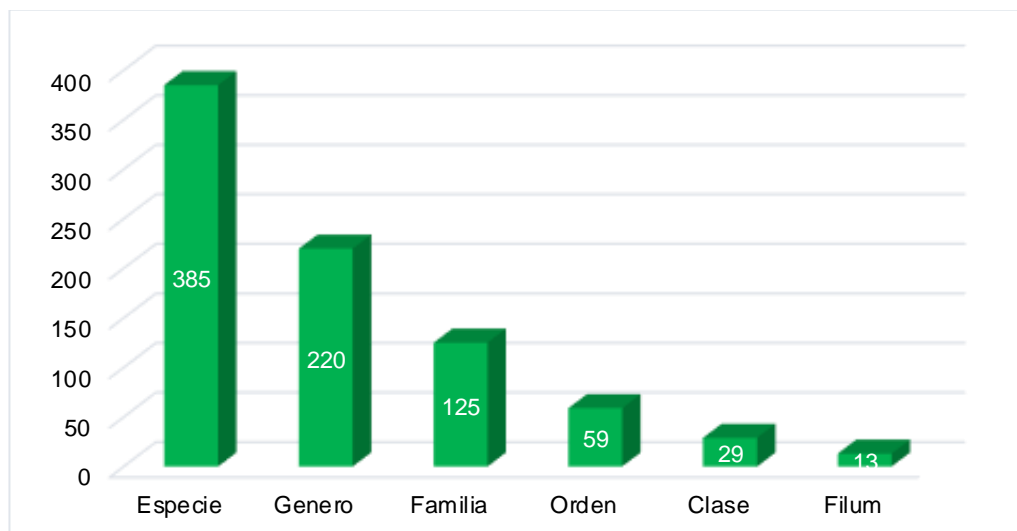


Figura 6. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera.



Entre los 220 géneros que se han caracterizado a nivel de la filósfera, sobresalen *Bacillus*, *Rhizobium* y *Pseudomonas* (Figura 7).



Figura 7. Distribución del dominio bacteriano por género en la filósfera.

De todas las 125 familias que se han caracterizado a nivel de la filósfera, destacan *Enterobacteriaceae*, *Rhizobiaceae* y *Microbacteriaceae* (Figura 8).

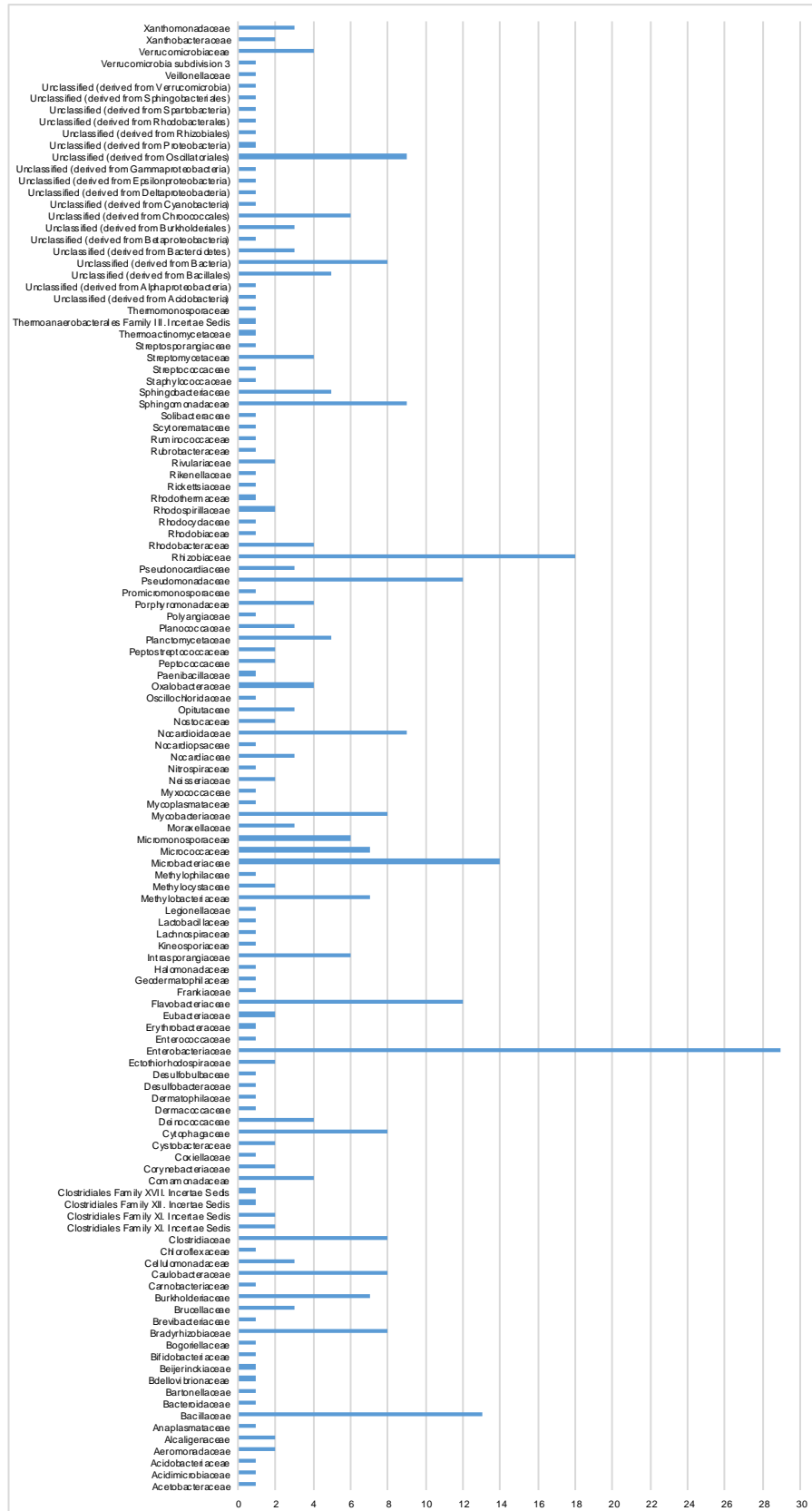
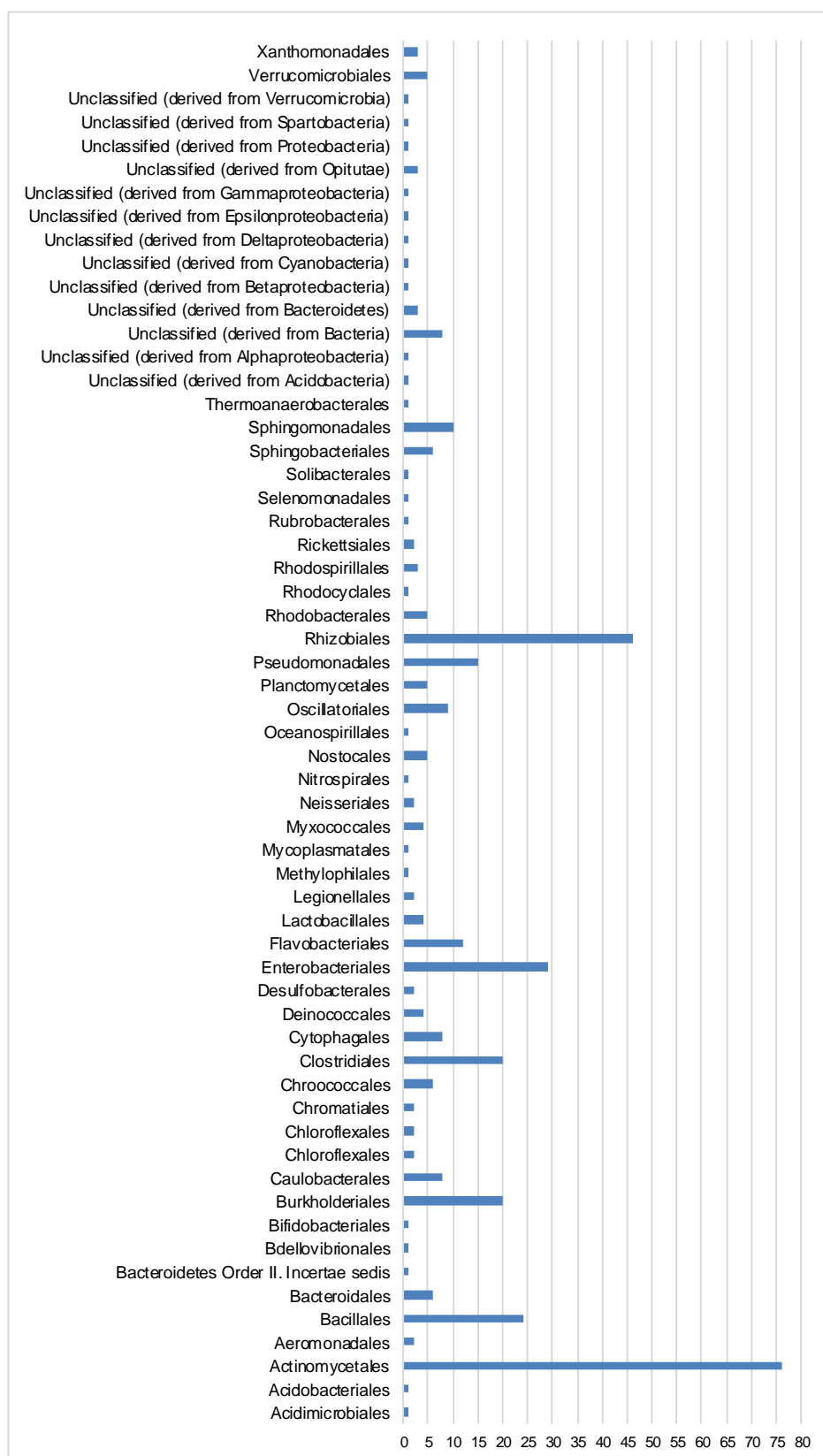


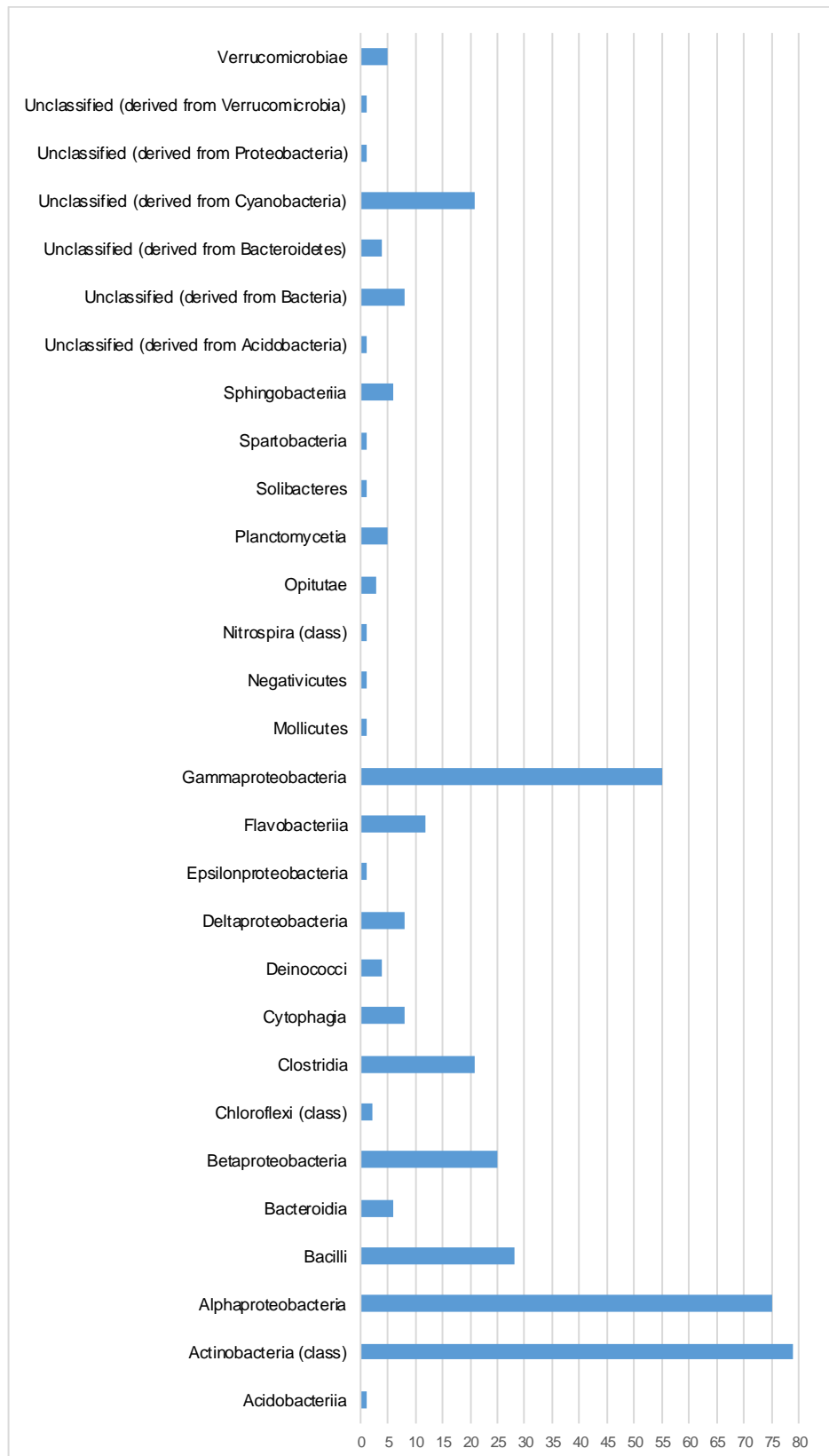
Figura 8. Distribución del dominio bacteriano por familia en la filósfera.

Entre los 59 órdenes que se han caracterizado a nivel de la filósfera, resaltan *Actinomycetales*, *Rhizobiales* y *Enterobacteriales* (Figura 9).



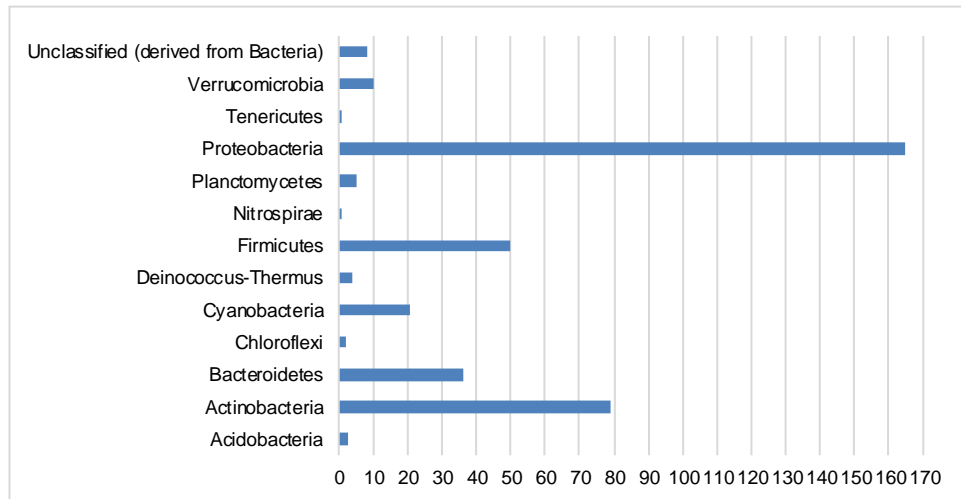
**Figura 9. Distribución del dominio bacteriano por orden en la filósfera.**

De todas las 29 clases que se han caracterizado a nivel de la filósfera, prevalecen *Actinobacteria*, *Alphaproteobacteria* y *Gammaproteobacteria* (Figura 10).



**Figura 10. Distribución del dominio bacteriano por clase en la filósfera.**

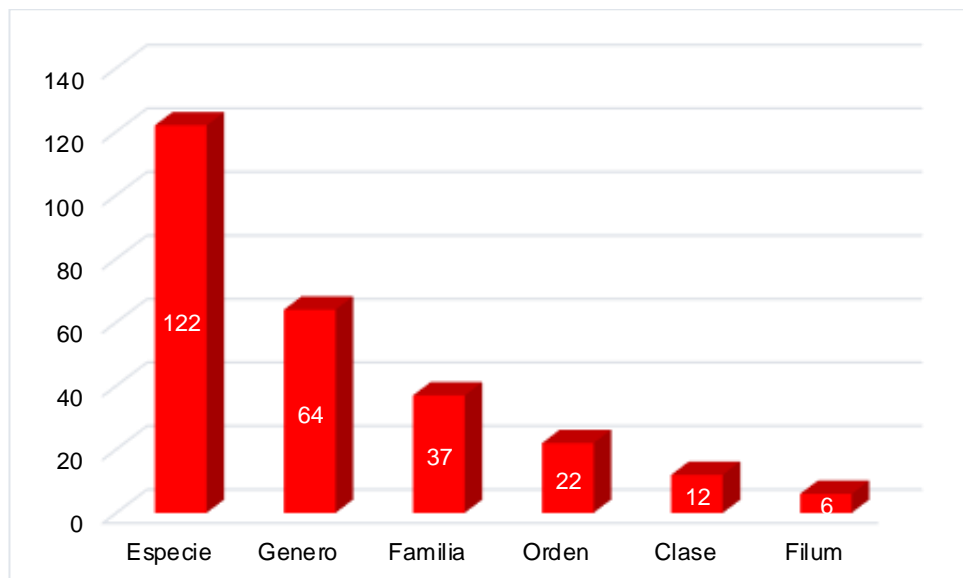
Entre los 13 filum que se han caracterizado a nivel de filósfera, destacan *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes* (Figura 11).



**Figura 11. Distribución del dominio bacteriano por filum en la filósfera.**

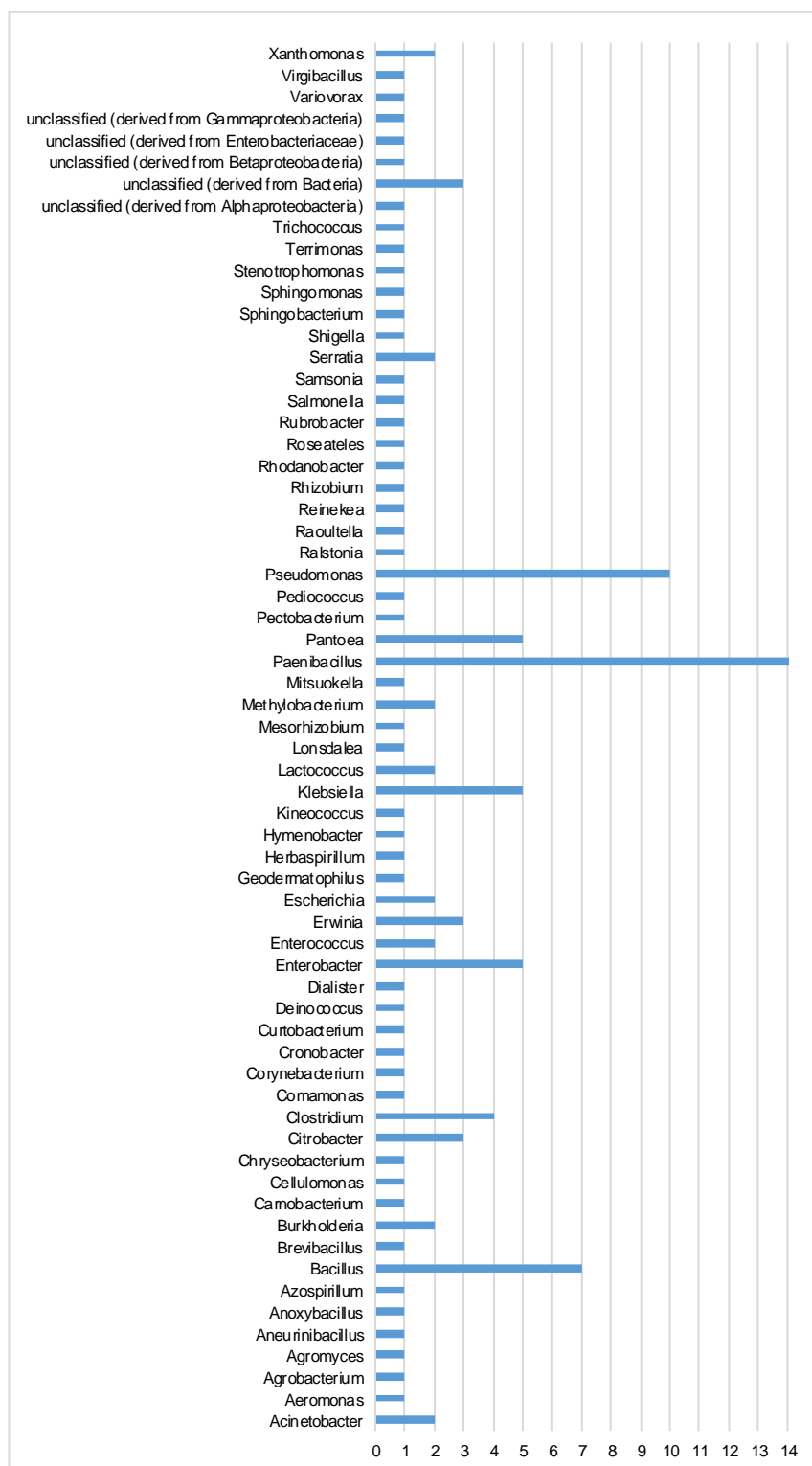
#### 4.4. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*.

La distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas con síntomas de infección por *B. glumae*, según el cuadro 15 del anexo, fue de 122 especies agrupadas en 64 géneros, 37 familias, 22 ordenes, 12 clases y 6 filum (Figura 12).



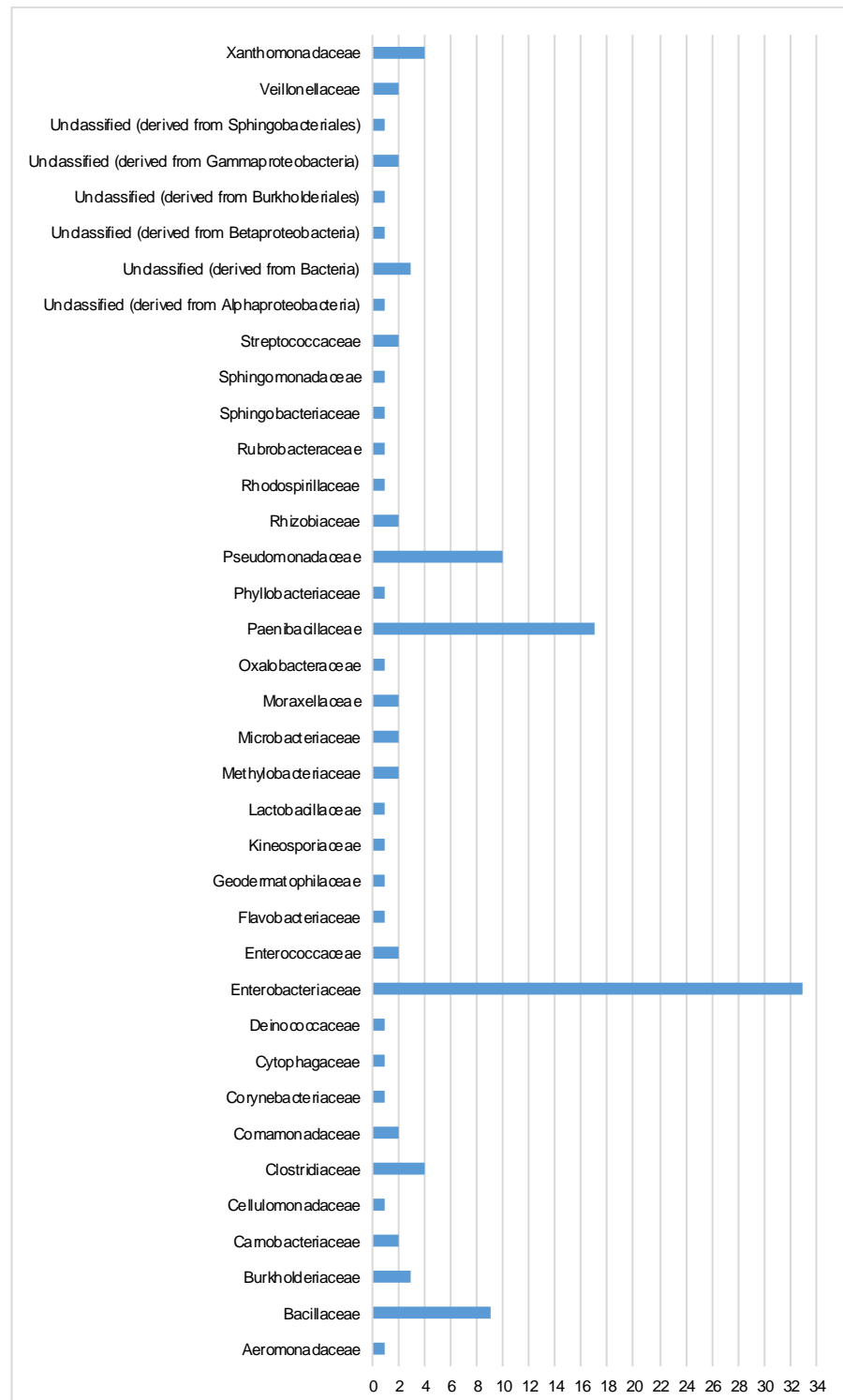
**Figura 12. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*.**

De todos los 64 géneros que se han caracterizado a nivel de las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* resaltan *Paenibacillus*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (Figura 13).



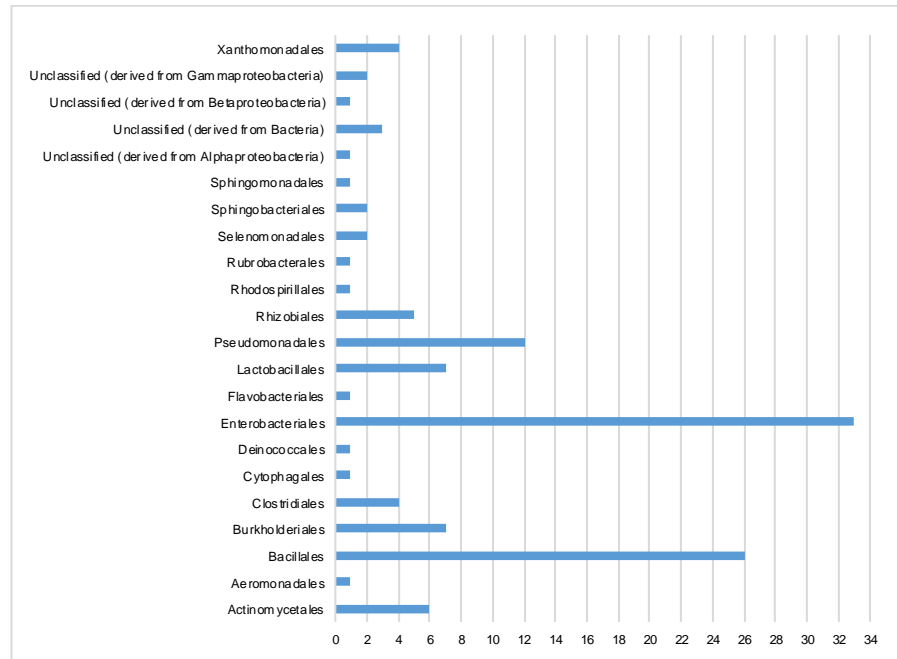
**Figura 13. Distribución del dominio bacteriano por género en las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*.**

Entre las 37 familias que se han caracterizado a nivel de las semillas con síntomas de infección con *B. glumae* sobresalen *Enterobacteriaceae*, *Paenibacillaceae* y *Pseudomonadaceae* (Figura 14).



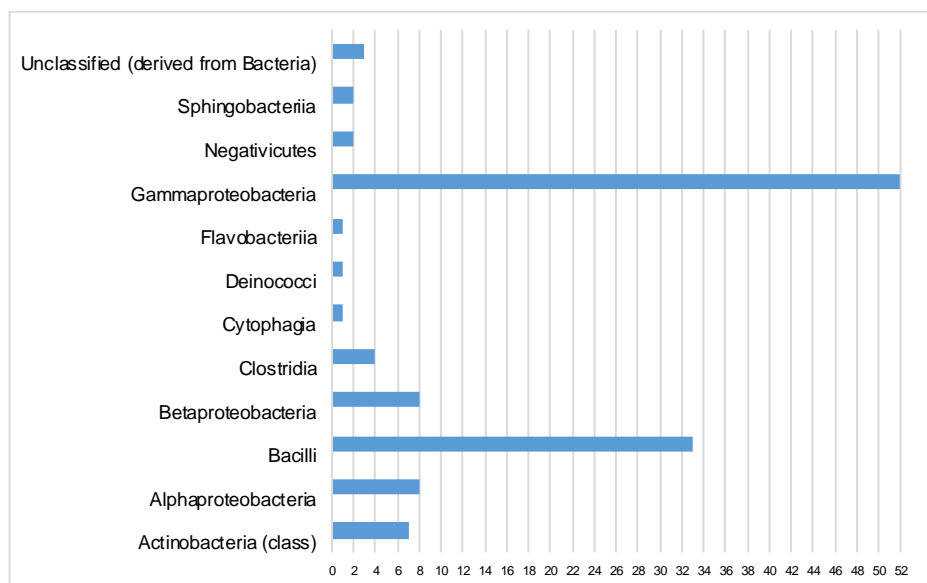
**Figura 14. Distribución del dominio bacteriano por familia en las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*.**

De todos los 22 órdenes que se han caracterizado a nivel de las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* destacan *Enterobacteriales*, *Bacillales* y *Pseudomonadales* (Figura 15).



**Figura 15. Distribución del dominio bacteriano por orden en las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*.**

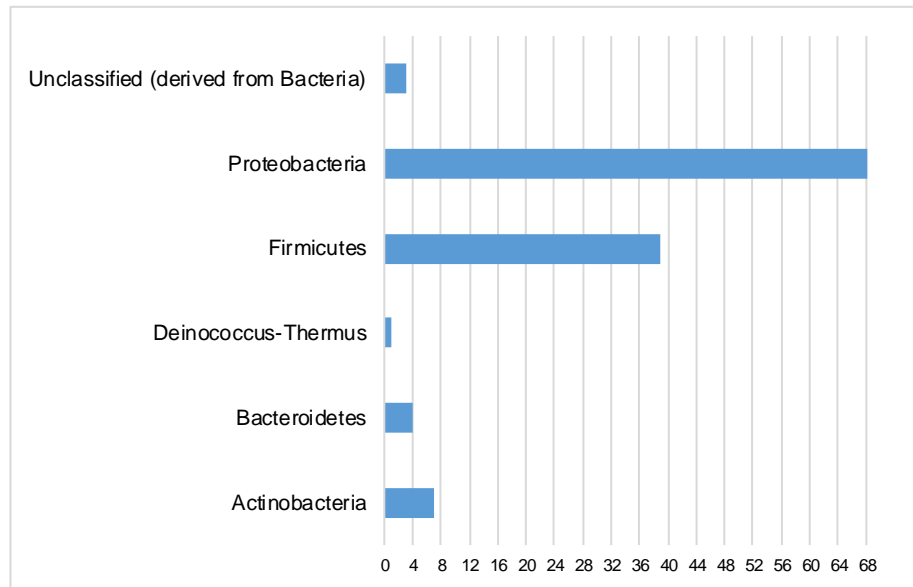
Entre las 12 clases que se han caracterizado a nivel de las semillas con síntomas de infección con *B. glumae* resaltan *Gammaproteobacteria* y *Bacilli* (Figura 16).



**Figura 16. Distribución del dominio bacteriano por clase en las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*.**



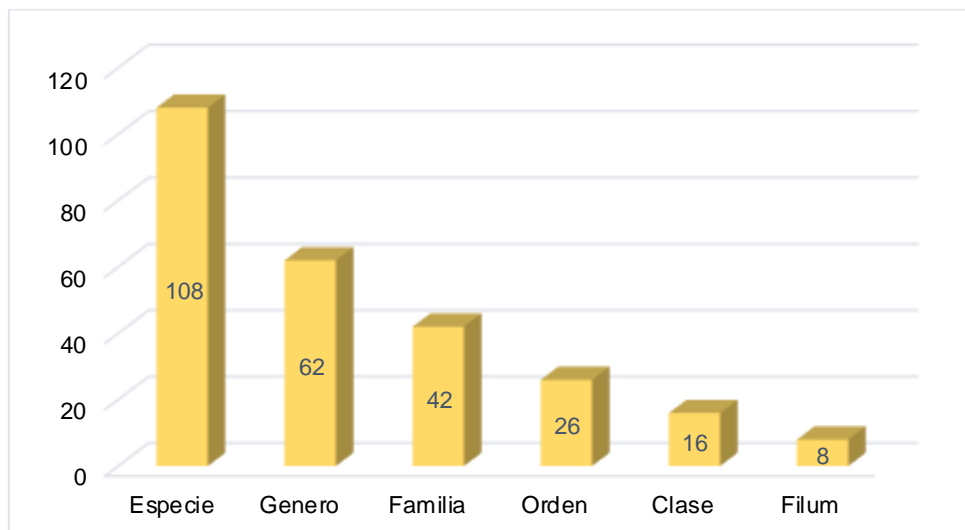
De todos los 6 filum que se han caracterizado a nivel de las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* sobresalen *Proteobacteria* y *Firmicutes* (Figura 17).



**Figura 17. Distribución del dominio bacteriano por filum en las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*.**

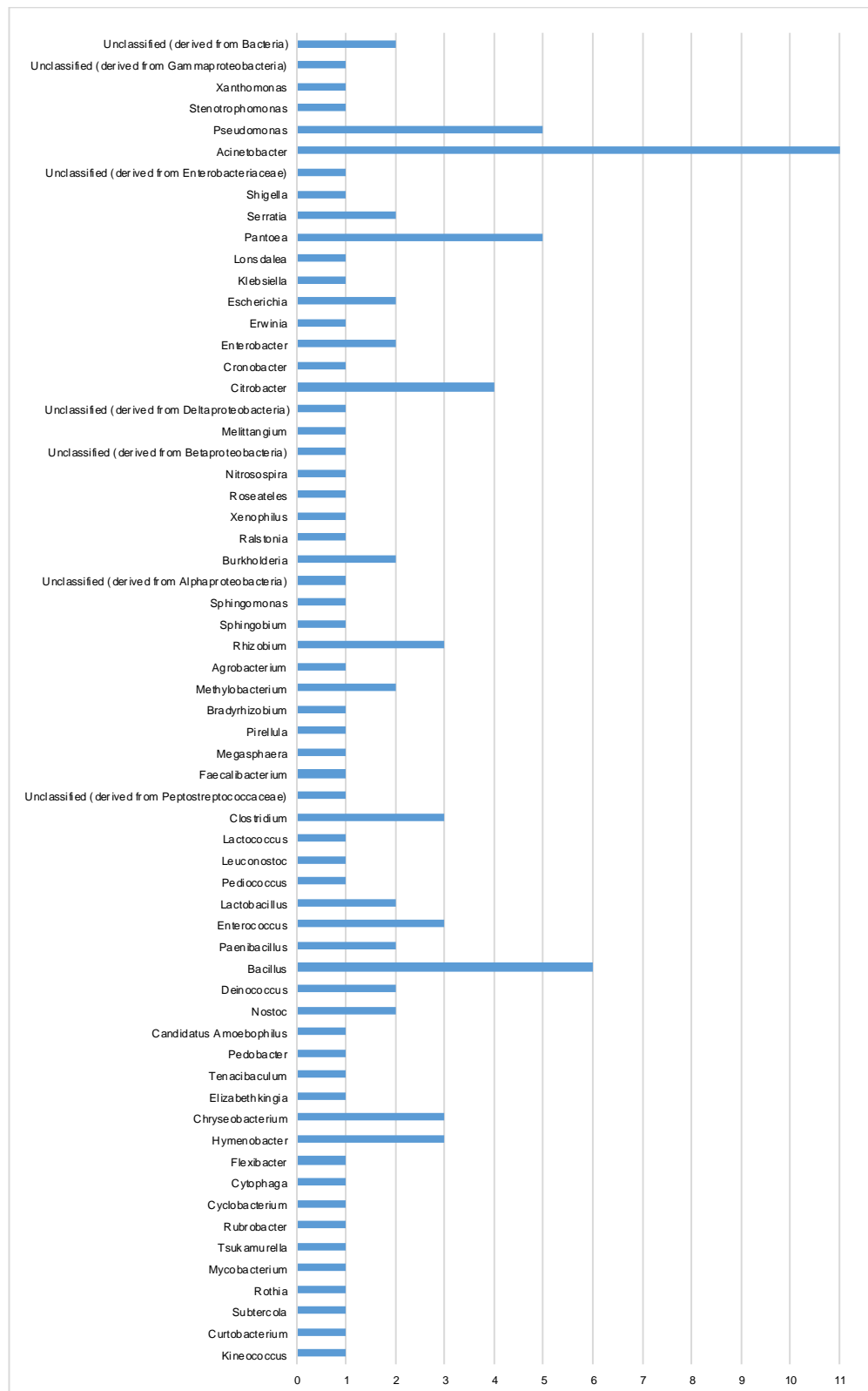
#### 4.5. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas sanas.

La distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas sanas, según la tabla 16 del anexo, fue de 108 especies agrupadas en 62 géneros, 42 familias, 26 órdenes, 16 clases y 8 filum (Figura 18).



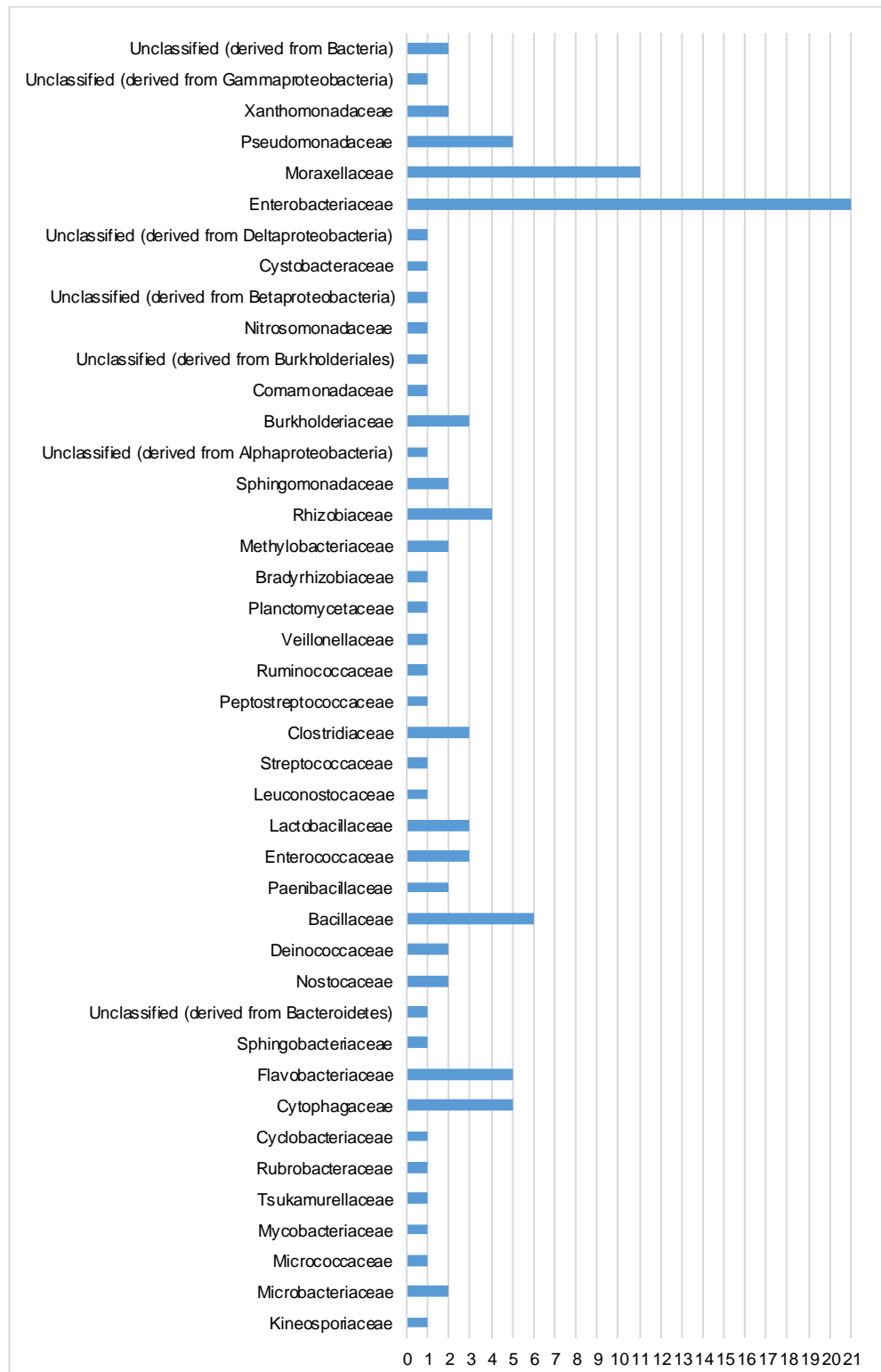
**Figura 18. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas sanas.**

Entre los 62 géneros que se han caracterizado a nivel de las semillas sanas destacan *Acinetobacter* y *Pseudomonas* (Figura 19).



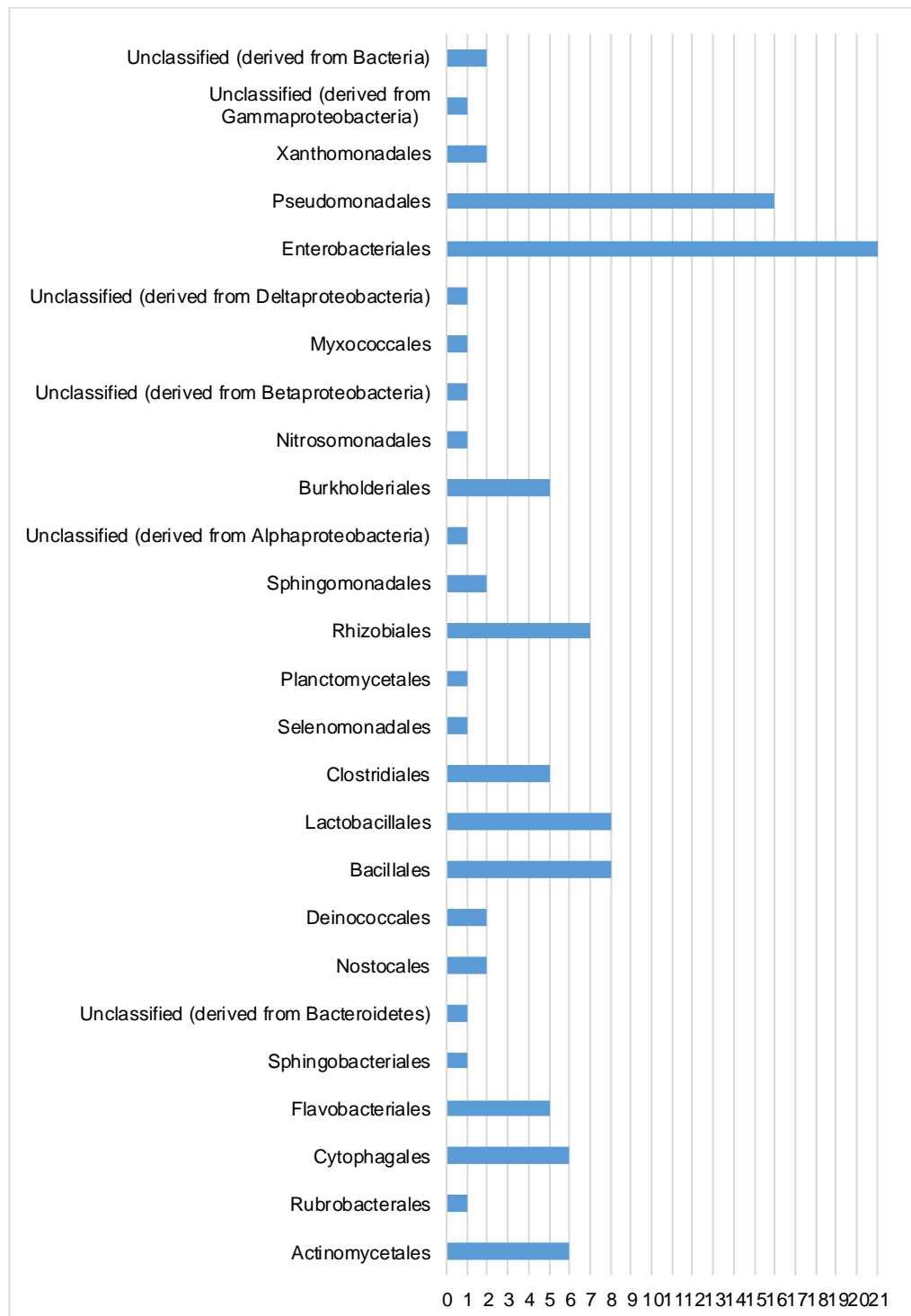
**Figura 19. Distribución del dominio bacteriano por género en las semillas sanas.**

De todas las 42 familias que se han caracterizado a nivel de las semillas sanas sobresalen *Enterobacteriaceae*, *Moraxellaceae* y *Bacillaceae* (Figura 20).



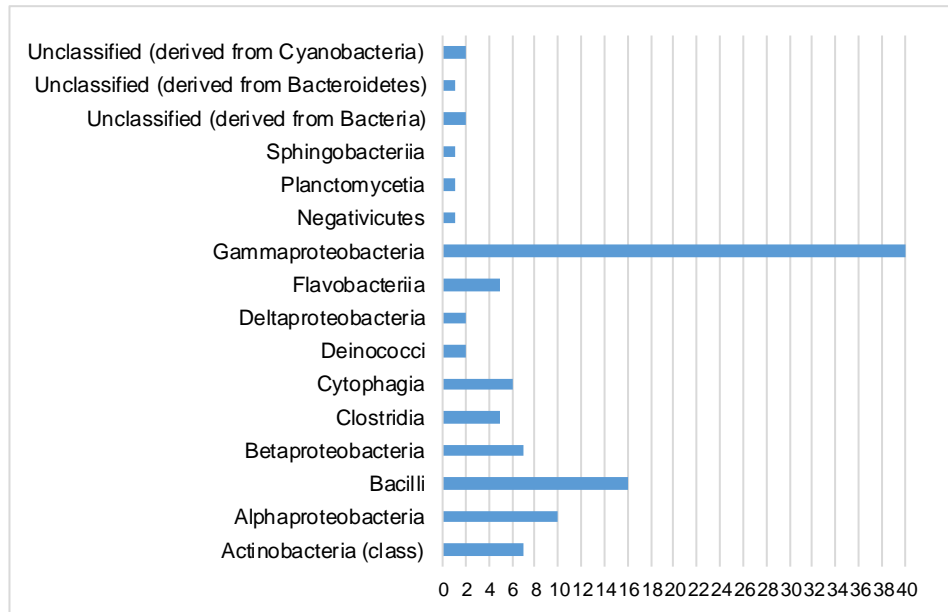
**Figura 20. Distribución del dominio bacteriano por familia en las semillas sanas.**

Entre los 26 órdenes que se han caracterizado a nivel de las semillas sanas destacan *Enterobacteriales* y *Pseudomonadales* (Figura 21).



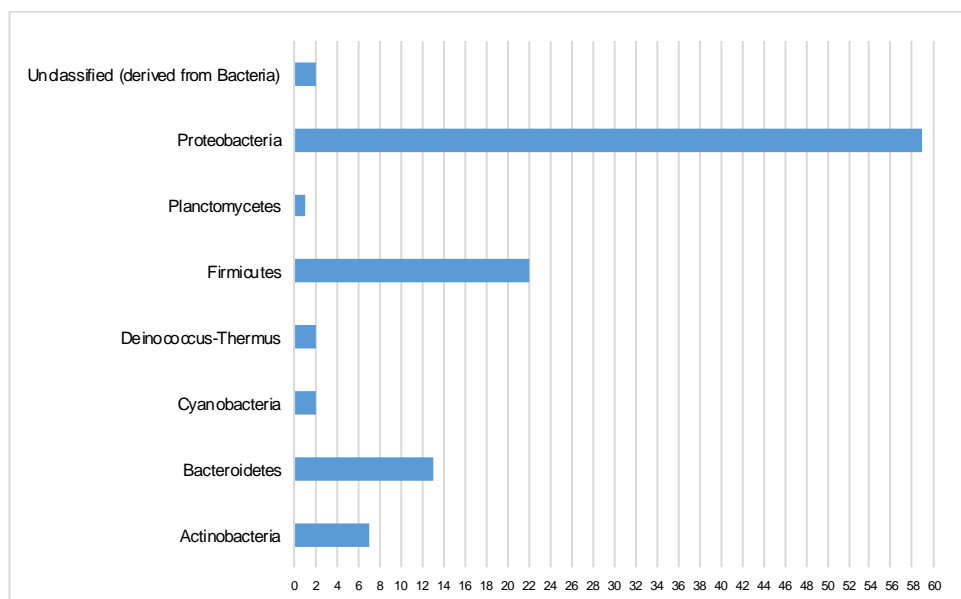
**Figura 21. Distribución del dominio bacteriano por orden en las semillas sanas.**

De todas las 16 clases que se han caracterizado a nivel de las semillas sanas destacan *Gammaproteobacteria*, *Bacilli* y *Alphaproteobacteria* (Figura 22).



**Figura 22. Distribución del dominio bacteriano por clase en las semillas sanas.**

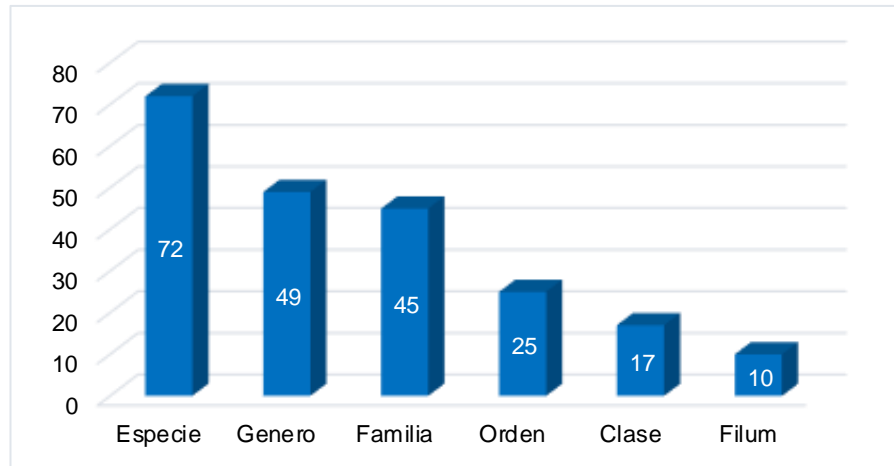
Entre todos los 8 filum que se han caracterizado a nivel de las semillas sanas resaltan *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (Figura 23).



**Figura 23. Distribución del dominio bacteriano por filum en las semillas sanas.**

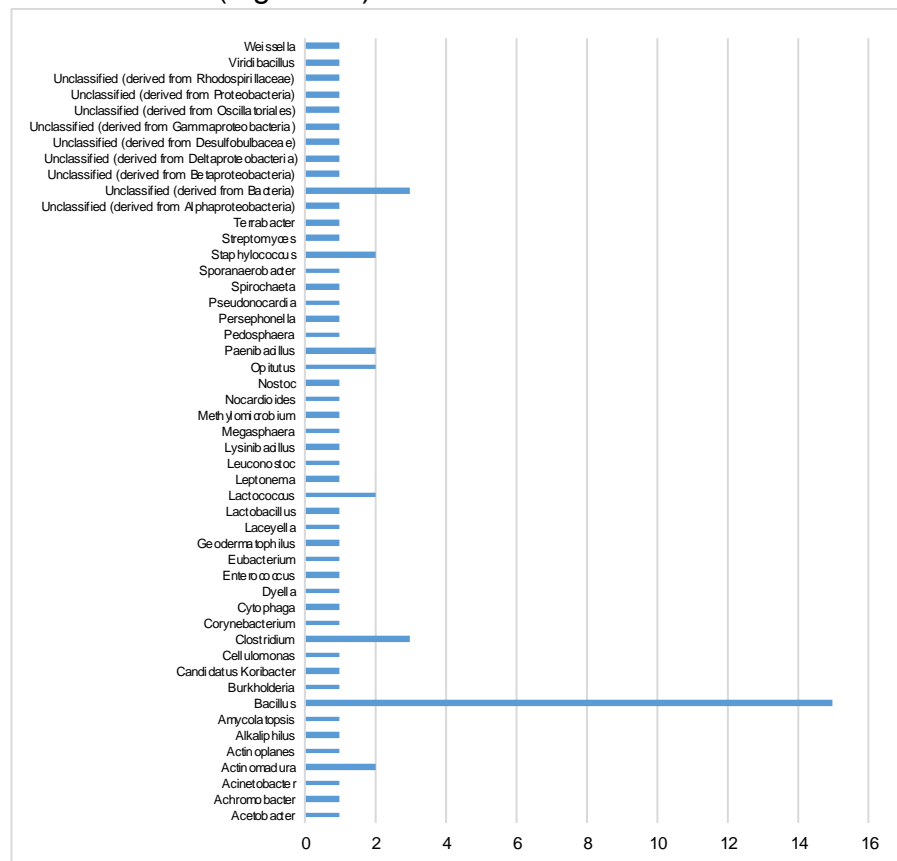
#### 4.6. Distribución del dominio bacteriano asociado a rizósfera.

La distribución del dominio bacteriano asociado a la rizósfera, según la tabla 17 del anexo, fue de 72 especies agrupadas en 49 géneros, 45 familias, 25 órdenes, 17 clases y 10 filum (Figura 24).



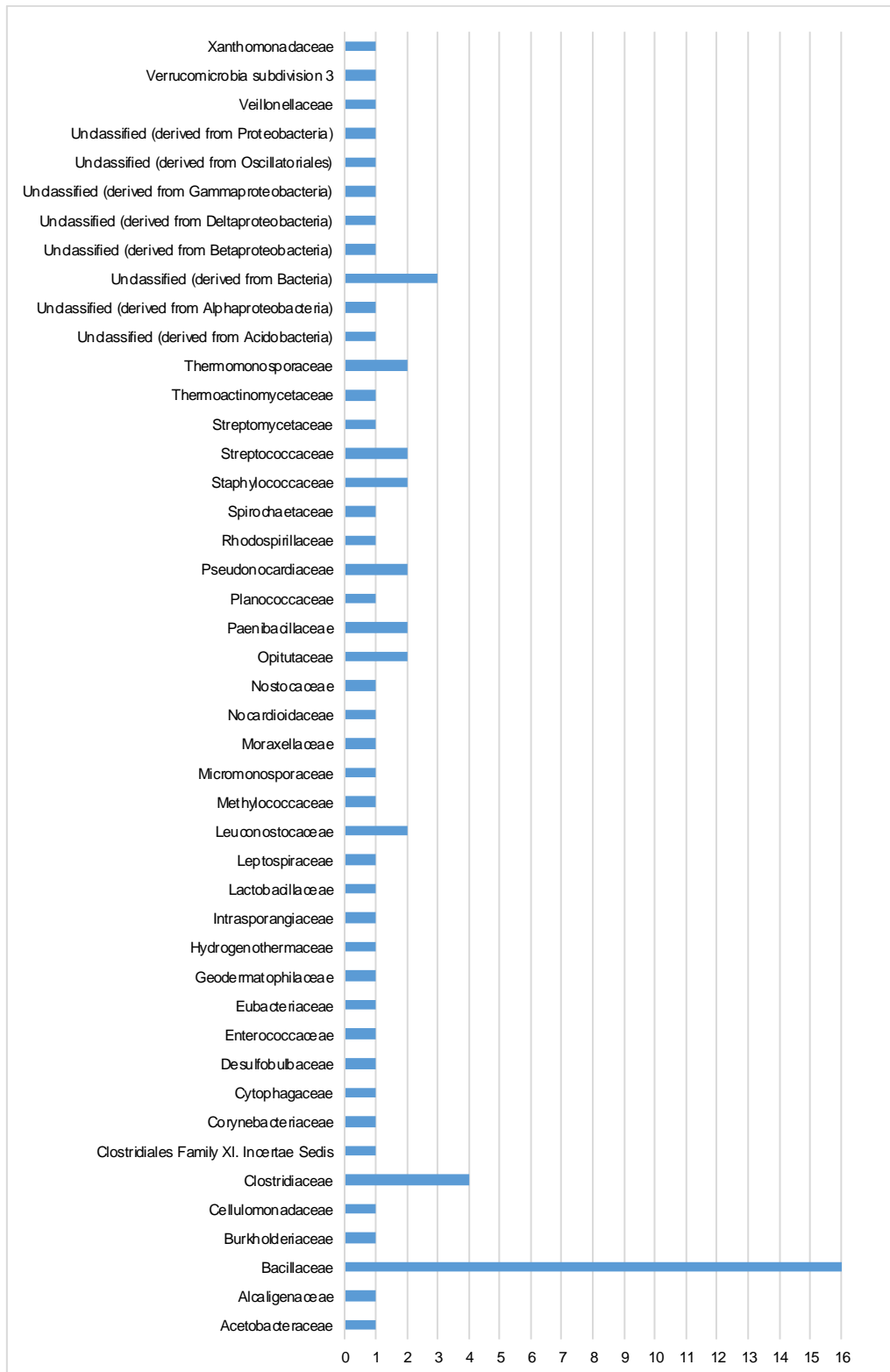
**Figura 24. Distribución del dominio bacteriano asociado a la rizósfera.**

Entre los 49 géneros que se han caracterizado a nivel de la rizósfera sobresale *Bacillus* (Figura 25).



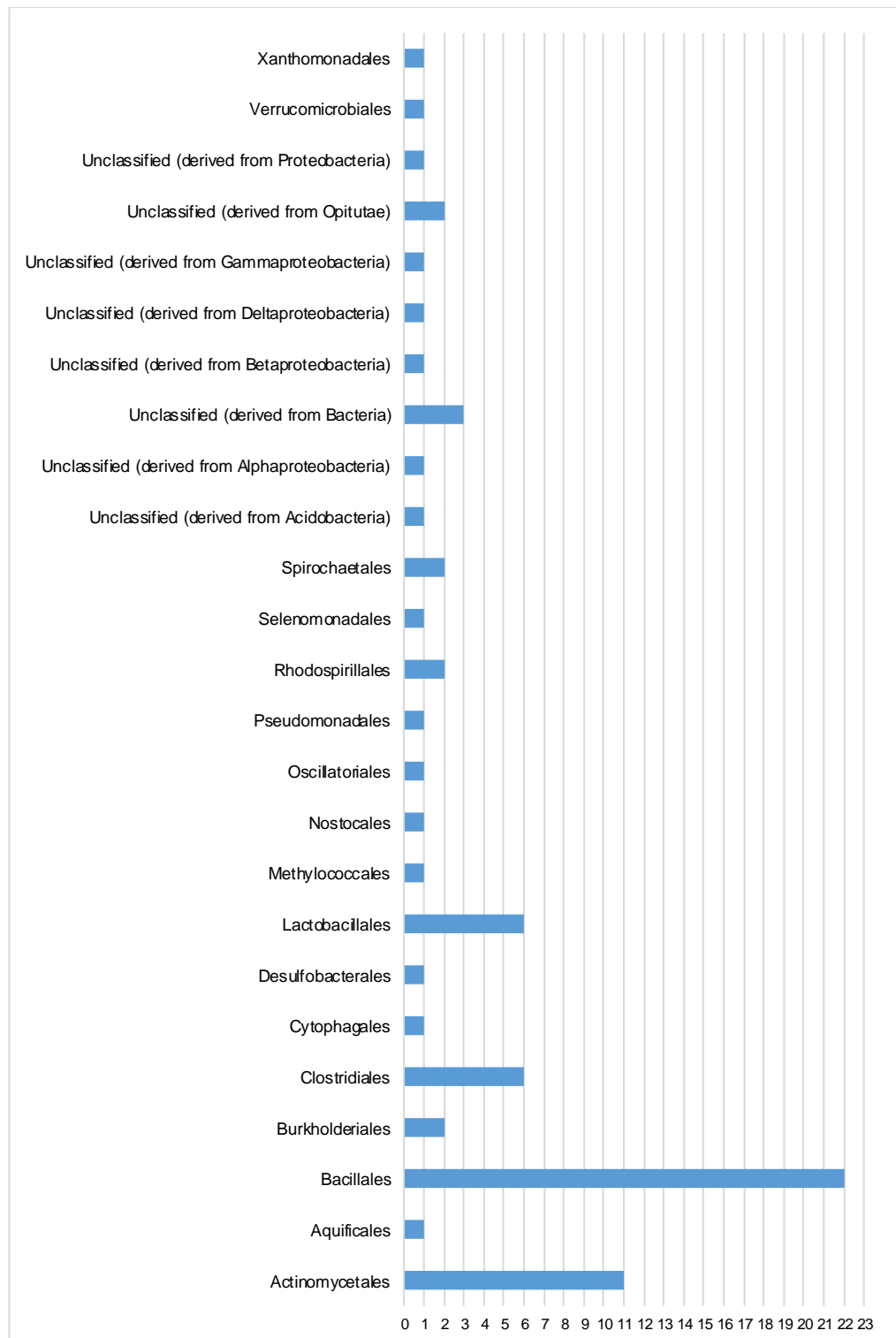
**Figura 25. Distribución del dominio bacteriano por género en la rizósfera.**

De todas las 45 familias que se han caracterizado a nivel de la rizósfera destaca *Bacillaceae* (Figura 26).



**Figura 26. Distribución del dominio bacteriano por familia en la rizósfera.**

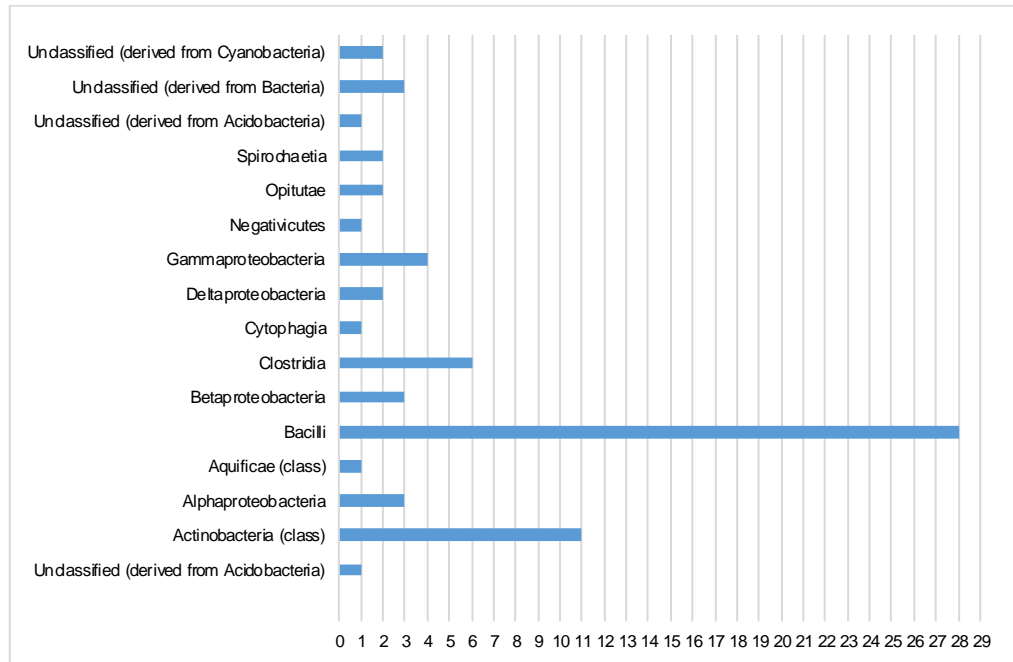
Entre los 25 órdenes que se han caracterizado a nivel de la rizósfera resalta *Bacillales* (Figura 27).



**Figura 27. Distribución del dominio bacteriano por orden en las rizósfera.**

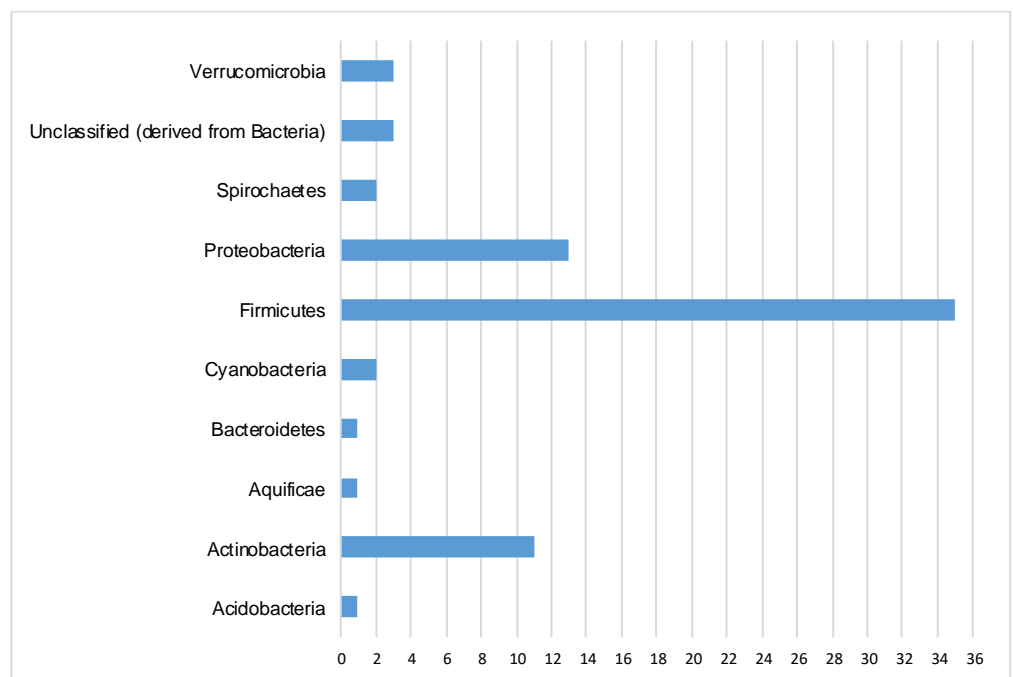


De todas las 17 clases que se han caracterizado a nivel de la rizósfera sobresale *Bacilli* (Figura 28).



**Figura 28. Distribución del dominio bacteriano por clase en la rizósfera.**

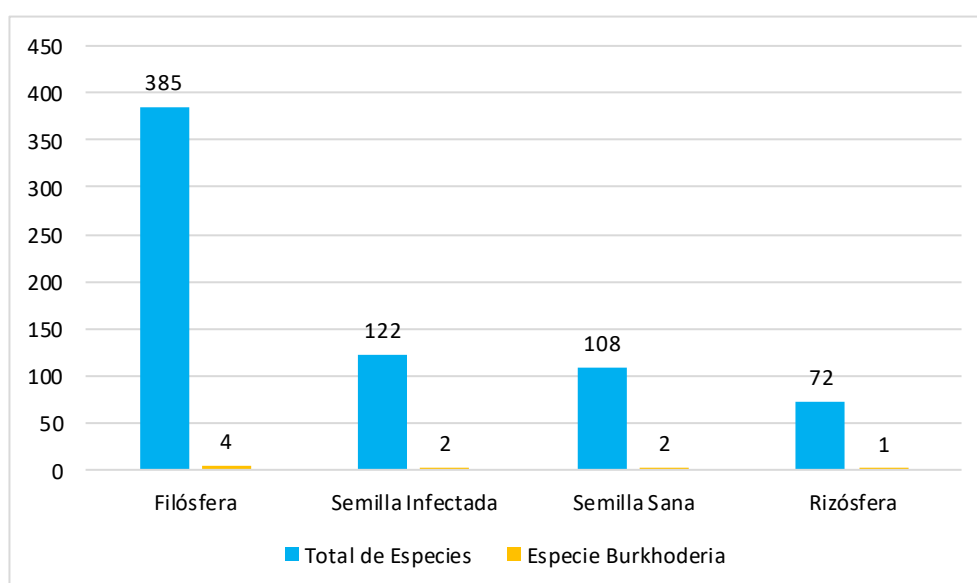
Entre todos los 10 filum que se han caracterizado a nivel de la rizósfera destacan Firmicutes y Proteobacteria (Figura 29).



**Figura 29. Distribución del dominio bacteriano por filum en las rizósfera.**

#### 4.7. Incidencia de especies del genero *Burkholderia*.

En general, todas las muestras evaluadas mostraron una baja incidencia de especies del género *Burkholderia* (Figura 30) sin embargo hay que señalar que se encontraron pequeñas fracciones de *B. cepacia*, en las semillas con síntomas de estar infectadas con *Burkholderia*, en las semillas sanas y en la rizósfera, así como de *B. pseudomallei*, en la filósfera, en las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* y en las semillas sanas; además en la filósfera se observó la presencia de *Burkholderia fungorum*, *Burkholderia* sp. JPY479 y Uncultured *Burkholderia* sp.



**Figura 30. Especies del género *Burkholderia* según procedencia de la muestra.**

#### 4.8. Eficiencia en el control *in vitro* de *Burkholderia glumae*.

Las diez especies de bacterias antagónicas procedentes, una de la filósfera, seis de la rizósfera y tres de semillas sanas y en su mayoría pertenecientes al género *Bacillus*, inhibieron fuertemente el desarrollo de las cepas de bacterias provenientes de semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, por lo que se asegura que tienen un buen comportamiento antagónico (Tabla 13).

**Tabla 13. Eficiencia en el control *in vitro* de *Burkholderia* según procedencia de la muestra y tipo de bacteria antagonista.**

Nº	PROCEDENCIA DE LA MUESTRA	TIPO DE BACTERIA ANTAGÓNICA	DIÁMETRO DE INHIBICIÓN	CÓDIGO	CONDICIÓN DE LA ZONA DE INHIBICIÓN
1	Filósfera	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain ICBB 200	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
2	Rizósfera	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
3	Rizósfera	<i>Bacillus pumilus</i> strain AL-41	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
4	Rizósfera	<i>Enterobacter asburiae</i> strain 35734	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
5	Rizósfera	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3 plasmid p1	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
6	Rizósfera	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
7	Rizósfera	<i>Bacillus aryabhatai</i> strain N6	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
8	Semilla Sana	<i>Bacillus pumilus</i> strain AL-41	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
9	Semilla Sana	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain ICBB 200	>10 mm	+++	Inhibición fuerte
10	Semilla Sana	<i>Bacillus megaterium</i> strain Q3 plasmid p1	>10 mm	+++	Inhibición fuerte

## 5. DISCUSIÓN.

La microbiología molecular y la metagenómica han permitido aislar y caracterizar, en arroz, una gran cantidad de bacterias asociadas a la filósfera, rizósfera, semillas sanas y con síntomas estar infectadas con *B. glumae*, entre cultivables y no cultivables, lo que significa, según Arjun y Harikrishnan (2011), que existe un nicho ecológico favorable para una actividad microbiana muy importante desde el punto de vista agronómico, coincidiendo con lo manifestado por Okubo *et al.* (2014) y Sessitsch *et al.* (2012) quienes señalan que las plantas de arroz representan un hábitat para diversos microorganismos, que colonizan las partes aéreas, referidas como filósfera, así como la raíz (rizósfera) y con Miyagawa y Takaya. (2000), Cuong *et al.* (2011), Akter *et al.* (2014), Van Hop *et al.* (2014) y Chung *et al.* (2015), quienes han podido realizar el aislamiento y la caracterización de bacterias antagonistas nativas provenientes de la rizósfera y filósfera de plantas de arroz gracias a herramientas moleculares.

En microbiología molecular, los análisis de secuencias de los clones y *strains* mediante el gen 16S ADN ribosomal indicaron una mayor presencia de *Pseudomonas* en semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, en semillas sanas destacaron *Bacillus* y *Pantoea*, en rizósfera prevaleció *Bacillus* y en filósfera sobresalieron especies Uncultured, es decir que aún no han sido plenamente identificadas. En contraste a ello, Arjun y Harikrishnan (2011), encontraron una alta diversidad en las comunidades bacterianas de la rizósfera, la mayoría estrechamente relacionados a *Proteobacterias*. El contraste de la diversificación poblacional se debería a la especie vegetal, variedad, condiciones ambientales y manejo del cultivo, esto último reportado por Aslam *et al.* (2013).

Son numerosos los estudios que se han llevado a cabo para investigar a los microorganismos asociados a la filósfera y rizósfera de arroz, utilizando medios de cultivo y análisis metagenómico, Okubo *et al.* (2014) y Sessitsch *et al.* (2012). En relación a ello Arjun y Harikrishnan (2011), mencionan que menos del 1% del total de poblaciones microbianas en medio ambiente terrestre, han sido aisladas con éxito en cultivo puro; es decir que no pueden ser aislados por

métodos basados en cultivos actuales y tradicionales; en ese sentido se explica la poca cantidad de bacterias cultivables (48), que se ha podido aislar y caracterizar mediante la técnica de microbiología molecular, pues en comparación a la metagenómica dirigida, las bacterias cultivables encontradas por microbiología molecular en la filósfera representan el 1,81%, las de la Rizósfera 18%, de las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* 15,5% y en las semillas sanas el 8,33%, esto en relación a las bacterias identificadas por metagenómica.

El conocimiento sobre la estructura de la comunidad bacteriana asociada a la rizósfera es imprescindible para una adecuada comprensión de cómo funcionan las bacterias de manera individual y colectiva, en ello, la metagenómica puede dar respuesta a varias preguntas sobre todo con respecto a la fracción no cultivable de bacterias asociadas a la rizósfera (Arjun y Harikrishnan, 2011). Los resultados de caracterización molecular basados en la microbiología molecular y la metagenómica, mostraron un alto índice de especies bacterianas, entre cultivables y no cultivables, siendo la fracción más representativa las bacterias no cultivables.

El buen comportamiento antagónico que han expresado las 10 especies del género *Bacillus* que se aislaron y caracterizaron, coincide de alguna manera con lo expresado por Shrestha *et al.* (2016), quienes dicen que las bacterias correspondientes al género *Bacillus* no sólo lograron la inhibición de los patógenos a nivel *in vitro*, sino también a nivel de campo.

Así mismo Huang *et al.* (2012) manifiestan que muchas especies de *Bacillus*, habitantes naturales de la filósfera y rizósfera de las plantas, tienen la capacidad para producir enzimas, antibióticos, proteínas, vitaminas o metabolitos secundarios con capacidad para promover crecimiento o inducir los mecanismos de defensa de la planta, actuar como agentes de control biológico de plagas y enfermedades de plantas, protectores de semillas y probióticos.

La ausencia de *Burkholderia glumae*, se debería a la menor producción de toxoflavin, principal desencadenante de la enfermedad, el cual es dependiente del sistema de “*quórum sensing*” (Chen *et al.* 2012, Karki *et al.* 2012, Goo *et al.*

2010, Karki. 2010 y Devescovi *et al.* 2007); pero además, si se considera lo manifestado por Arjun y Harikrishnan (2011), quienes refieren que es imprescindible el conocimiento de la estructura de la comunidad bacteriana para una adecuada comprensión de cómo funcionan las bacterias de manera individual o colectiva; y lo que dice Shrestha *et al.* (2016), respecto a que algunas bacterias tendrían potencial como agentes de control biológico; los resultados, sobre la no presencia de *Burkholderia glumae*, pero sí de otras especies de este mismo género, y sobre la fuerte inhibición que mostraron las 10 cepas de bacterias aisladas y confrontadas, estarían coincidiendo, en cierta manera, con lo expresado con los autores anteriormente mencionados.

## 6. CONCLUSIONES.

1. Se aislaron y caracterizaron molecularmente 48 bacterias cultivables por microbiología molecular y por metagenómica dirigida 687 entre cultivables y no cultivables, asociadas a la filósfera, rizósfera, semillas sanas y con síntomas de estar infectadas con *B. glumae*, en *Oryza sativa*.
2. A nivel de filósfera se aislaron y caracterizaron siete bacterias cultivables por medio de microbiología molecular y 385 bacterias, entre cultivables y no cultivables, por metagenómica dirigida.
3. En la rizósfera se aislaron y caracterizaron, por microbiología molecular, 13 bacterias cultivables y por metagenómica dirigida 72 entre cultivables y no cultivables.
4. A nivel de semillas sanas se aislaron y caracterizaron, por microbiología molecular nueve bacterias cultivables y por metagenómica dirigida 108 entre cultivables y no cultivables.
5. En las semillas con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* se aislaron y caracterizaron, por microbiología molecular, 19 bacterias cultivables y por metagenómica dirigida 122 entre cultivables y no cultivables.
6. Se encontraron 10 géneros de bacterias cultivables, asociadas benéficamente a la planta de arroz, seis en la rizósfera, tres en semillas sanas y una en la filósfera, las cuales mostraron un efecto inhibitor fuerte en el crecimiento de dos especies del género *Burkholderia*; estas fueron *B. pseudomallei* y *B. cepacia*.

## **7. RECOMENDACIONES.**

1. Caracterizar a nivel transcriptómico y proteómico las cepas bacterianas aisladas y que han demostrado tener una fuerte inhibición de *Burkholderia* y su posterior ensayo en campo.
2. Ensayar co-cultivos de las especies bacterianas aisladas de la filósfera, rizósfera y semillas, para determinar su funcionalidad en las plantas de arroz.
3. Realizar estudios de espectrometría para generar perfiles de masas de bacterias patogénicas y benéficas para estandarizar un método de caracterización e identificación mucho más rápido y preciso.
4. Identificar metabolitos producidos a nivel bacteriano que tengan actividad supresora de diversas enfermedades fúngicas y bacterianas en plantas.



## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Alvitres, Víctor. 2000. *Método científico: Planificación de la investigación*. 2da ed. Chiclayo: Ciencia.
- Alzueta, J. y R. Soler. 2011. *Técnicas de biología molecular aplicadas en anatomía patológica*. Málaga: FESITESS Andalucía.
- Arjun, J. and K. Harikrishnan. 2011. Metagenomic analysis of bacterial diversity in the rice rhizosphere soil microbiome. *Biotechnol. Bioinf. Bioeng.*, 1(3): 361-367.
- Aslam, Z., M. Yasir, H. Yoon, C. Jeon, and Y. Chung. 2013. Diversity of the bacterial community in the rice rhizosphere managed under conventional and no-tillage practices. *Journal of Microbiology*, 51(6): 747–756.
- Atlas, R. y R. Bartha. 2002. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Edición en español. Madrid: Pearson Educación S.A.
- Caldera, M. 2014. Development of a loop-mediated Isothermal amplification for the detection of *Burkholderia glumae*. A thesis of Master of Science. Departament Plant Pathology and Crop Physiology. Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Chen, R., I. Barphagha, H. Karki and J. Ham. 2012. Dissection of quorum-sensing genes in *Burkholderia glumae* reveals non-canonical regulation and the new regulatory gene *tofM* for toxoflavin production. *PLoS ONE* 7(12): e52150.
- Chung, E., M. Hossain, A. Khan, K. Kim, C. Jeon and Y. Chung. 2015. *Bacillus oryzicola* sp. nov., an endophytic bacterium isolated from the roots of rice with antimicrobial, plant Growth promoting, and systemic resistance inducing activities in rice. *Plant Pathol.* 31(2): 152-64.  
Accedido el 30 de junio del 2015.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4453996/>
- Cuong, N., M. Nicolaisen, J. Sorensen and S. Olsson. 2011. Hyphae-colonizing *Burkholderia* sp: a new source of biological control agents against sheath

blight disease (*Rhizoctonia solani* AG1-IA) in rice. *Microb. Ecol.* 62(2): 425-34.

Accedido el 30 de mayo del 2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21365233>

Devescovi, G., J. Bigirimana, G. Degrassi, L. Cabrio, J. LiPuma, J. Kim, I. Hwang and V. Venturi. 2007. Involvement of a quorum-sensing regulated lipase secreted by a clinical isolate of *Burkholderia glumae* in severe disease symptoms in rice. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(15): 4950–4958.

Dieppois, G., O. Opota, J. Lalucat and B. Lemaitre. 2012. *Chapter 2. Pseudomonas entomophila: A versatile bacterium with entomopathogenic properties*. In Ramos, J., J. Goldterg and A. Filloux Editors. *Pseudomonas Volume 7, New Aspects of Pseudomonas Biology*, 25-49. Springer, España.

Fang, Y., L. Xu, W. Tian, Y. Huai, S. Yu, M. Lou and G. Xie. 2009. Real-time fluorescence PCR method for detection of *Burkholderia glumae* from rice. *Rice Science*, 16(2): 157–160.

Goo, E., Y. Kang, H. Kim and I. Hwang I. 2010. Proteomic analysis of quorum sensing-dependent proteins in *Burkholderia glumae*. *Journal of Proteome Research*, 9(6): 3184–3199.

Guang-Hai, J., W. Lan-Fang, H. Yue-Qiu, W. Ya-Peng and B. Xue-Hui. 2008. Biological control of rice bacterial blight by *Lysobacter antibioticus* strain 13-1. *Biological Control*, 45 (3): 288–296.

Ham, J., R. Melanson and M. Rush. 2011. *Burkholderia glumae*: next major pathogen of rice. *Molecular Plant Pathology*, 12(4): 329–339.

Higa, T. and J. Parr. 1994. *Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environmental*. Atami: International Nature Farming Research Center.

Huang, T., D. Tzeng, A. Wong, C. Chen, K. Lu, Y. Lee, W. Huang, B. Hwang and K. Tzeng. 2012. DNA Polymorphisms and biocontrol of *Bacillus*

antagonistic to citrus bacterial canker with indication of the interference of phyllosphere biofilms. *PLoS ONE* 7(7): e42124.

Ji, S., M. Gururani and S. Chun. 2014. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research*, 169(1): 83-98.

Karki, H. 2010. Physiological, biochemical and molecular characteristics associated with virulence of *Burkholderia glumae*: the major causative agent of bacterial panicle blight of rice. A thesis of Master of Science. Department Plant Pathology and Crop Physiology. Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.

Karki, H., B. Shrestha, J. Han, D. Groth, I. Barphagha, M. Rush, R. Melnason, B. Kim and J. Ham. 2012. Diversities in virulence, antifungal activity, pigmentation and DNA pingerprint among strains of *Burkholderia glumae*. *PLoS ONE* 7(9): e45376.

Keener, K., T. Hoban and R. Balasubramanian. 1990. *Biotechnology and its applications*. College of Agriculture and Life Sciences. Department of Food Science.

Accedido el 18 de junio del 2015.

[https://fbns.ncsu.edu/extension\\_program/documents/biotech\\_applications.pdf](https://fbns.ncsu.edu/extension_program/documents/biotech_applications.pdf)

Kim, B., M. Cho, M. Kim, H. Choi, M. Kang, H. Shim, T. Ahn, J. Kim, and D. Park. 2012. Rapid and specific detection of *Burkholderia glumae* in rice seed by real-time Bio-PCR using species-specific primers based on an rns family gene. *Plant Dis.*, 96: 577-580.

Kim, M., K. Lee, S. Yoon, B. Kim, J. Chun and H. Yi. 2013. Analytical tools and databases for metagenomics in the next-generation sequencing era. *Genomics & Informatics*, 11(3): 102-13.

Accedido el 10 de junio del 2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3794082>

- Lim, J., T. Lee, B. Nahm, Y. Choi, M. Kim and I. Hwang. 2009. Complete genome sequence of *Burkholderia glumae* BGR1. *Journal of Bacteriology*, 191(11): 3758–3759.
- Madhaiyan, M., S. Poonguzhali, S. Kwon, M. Song and T. Sa. 2008. Molecular characterization of *Burkholderia* strains isolated from rice cultivars (*Oryza sativa* L.) for species identification and phylogenetic grouping. *Journal Microbiology Biotechnology*, 18(6): 1005–1010.
- Mirza, B. and J. Rodrigues. 2012. Development of a direct isolation procedure for free-living diazotrophs under controlled hypoxic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(16): 5542–5549.
- Miyagawa, H. and S. Takaya. 2000. Biological control of bacterial grain rot of rice by avirulent strain of *Burkholderia gladioli*. Bulletin of the Chugoku National Agricultural Experiment Station, 21: 1-12.  
Accedido 24 de febrero del 2016.  
<http://www.cabdirect.org/abstracts/20013052093.html>
- Mora, I., J. Cabrefiga and E. Montesinos. 2011. Antimicrobial peptide genes in *Bacillus* strains from plant environments. *International Microbiology*, 14: 213-223.
- National Center for Biotechnology Information. 2015. Database resources of National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Research*, 43(Database issue): D6-D17.
- Nogales, B. 2005. La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. *Ecosistemas*, 14(2): 41-51.  
Accedido el 2 de junio del 2015.  
<http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/153>
- Okubo, T., S. Ikeda, K. Sasaki, K. Ohshima, M. Hattori, T. Sato and K. Minamisawa. 2014. Phylogeny and functions of bacterial communities associated with field-grown rice shoots. *Microbes Environmental*, 29(3): 329-332.  
Accedido el 2 de junio del 2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25130883>

- Park, Y., S. Dutta, M. Ann, J. Raaijmakers and K. Park. 2015. Promotion of plant growth by *Pseudomonas fluorescens* strain SS101 via novel volatile organic compounds. *Biochem Biophys Res Commun*, 461(2): 361-365.
- Pérez, C. y L. Chamorro. 2012. Bacterias endófitas: una alternativa biológica para el control de *Burkholderia glumae* en el cultivo del arroz en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 4(1):172-184.
- Philippot, L., J. Raaijmakers, P. Lemanceau and W. Van der Putten. 2013. Going back to the roots the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11): 789-99.  
Accedido el 30 de mayo de 2015.  
<http://www.nature.com/nrmicro/journal/v11/n11/abs/nrmicro3109.html>
- Riera-Ruiz, C., J. Vargas, C. Cedeño, P. Quirola, M. Escobar, J. Cevallos-Cevallos, M. Ratti and E. Peralta. 2014. First report of *Burkholderia glumae* causing bacterial panicle blight on rice in Ecuador. *APS Journals, plant disease*, 98(7): 988.
- Ruangpan, L. and E. Tendencia. 2004. *Chapter 1. Bacterial isolation, identification and storage. In Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment.* Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department, 3-11, Tigbauan, Iloilo, Philippines.
- Russo, A., G. Carrozza, L. Vettori, C. Felici, F. Cinelli, and A. Toffanin. 2012. Chapter 3. *Plant beneficial microbes and their application in plant biotechnology. Innovations in biotechnology.* In Eddy C. Agbo Editors, *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology, Innovations in Biotechnology*, 57-72. Italia.
- Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). 2015. Comunicandonos. Boletín informativo SENASA. Edición N° 02/Febrero: 20.
- Sessitsch, A., P. Hardoim, J. Döring, A. Weilharter, A. Krause, T. Woyke, B. Mitter, L. Hauberg-Lotte, F. Friedrich, M. Rahalkar, T. Hurek, A. Sarkar, L.

Bodrossy, L. Van Overbeek, D. Brar, J. Van Elsas and B. Reinhold-Hurek. 2012. Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis. *APS Journal*, 25(1): 28–36.

Sharma, S., V. Kumar and B. Tripathi. 2011. Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. *Journal Microbiology Biotechnology*, 1(2): 90-95.

Shrestha, B., H. Karki, D. Groth, N. Jungkhun and J. Ham. 2016. Biological control activities of rice-associated *Bacillus* sp. strains against sheath blight and bacterial panicle blight of rice. *PLoS ONE*, 11(1): e0146764.

Somma, M. and M. Querci. 2006. *Session 6: The Polymerase Chain Reaction (PCR). The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms*. In Querci, M., M. Jermini and G. Van den Eede Editors. Training Course on *The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms*. User Manual. World Health Organization Regional Office for Europe, Weltgesundheitsorganisation Regionalbüro Für Europa, Organisation Mondiale De La Sante Bureau Regional De L'Europe and Всемирная Организация Здравоохранения Европейское Региональное Бюро. European Commision.

Accedido el 24 de febrero de 2016.

<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20EN/Session06.pdf>

Van Hop, D., P. Phuong, N. Quang, P. Ton, T. Ha, N. Van Hung, N. Van, T. Van Hai, N. Kim, N. Anh and V. Thi. 2014. Biological control of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* causing rice bacterial blight disease by *Streptomyces toxytricini* VN08-A-12, isolated from soil and leaf-litter samples in Vietnam. *Biocontrol Sci.*, 19(3): 103-11.

Accedido 22 de junio del 2015.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25252641>

Yuan, X. 2004. Identification of bacterial pathogens causing panicle blight of rice in Louisiana. A thesis of Master of Science. Departament Plant Pathology

and Crop Physiology. Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.

Zhu, B., M. Lou, Y. Huai, G. Xie, J. Luo and L. Xu. 2008. Isolation and identification of *Burkholderia glumae* from symptomless rice Seeds. *Rice Science*, 15(2): 145–149.

## 9. ANEXOS.

**Tabla 14, a. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera del arroz, obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
1	Acidobacteria	Acidobacteria	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae	Acidobacterium	Acidobacterium capsulatum	100
2	Acidobacteria	Solibacteres	Solibacterales	Solibacteraceae	Candidatus Solibacter	Candidatus Solibacter usitatus	98,9
3	Acidobacteria	Unclassified (derived from Acidobacteria)	Unclassified (derived from Acidobacteria)	Unclassified (derived from Acidobacteria)	Candidatus Koribacter	Candidatus Koribacter versatilis	99,23
4	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Acidimicrobiales	Acidimicrobiaceae	Acidimicrobium	Acidimicrobium ferrooxidans	100
5	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Bogoriellaceae	Bogoriella	Bogoriella caseolytica	100
6	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Brevibacteriaceae	Brevibacterium	Brevibacterium casei	100
7	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Cellulomonas	Cellulomonas bogoriensis	99,13
8	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Cellulomonas	Cellulomonas fimi	99,61
9	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Cellulomonas sp.	Cellulomonas sp. GM13	98,28
10	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	Corynebacterium cyclohexaricum	99,68
11	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	Corynebacterium durum	99,27
12	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Dematococcaceae	Kytococcus	Kytococcus sedentarius	99,92
13	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Dematophilaceae	Dematophilus	Dematophilus congolensis	99,03
14	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Frankiaceae	Frankia	Frankia sp.	100
15	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Geodermatophilaceae	Geodermatophilus	Geodermatophilus obscurus	99,99
16	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	Janibacter	Janibacter sp. BY48	98,73
17	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	Terrabacter	Terrabacter sp. YK1	99,99
18	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	Terrabacter	Terrabacter sp. YK3	99,85
19	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	Terrabacter	Terrabacter tumescens	98,31
20	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	Tetrasphaera	Tetrasphaera japonica	98,95
21	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	Tetrasphaera	Tetrasphaera jenkinsii	100
22	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Kineosporiaceae	Kineococcus	Kineococcus aurantiacus	99,53
23	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Agrococcus	Agrococcus jenensis	98,32
24	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Agromyces	Agromyces ceinus	100
25	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Cryobacterium	Cryobacterium psychrophilum	100
26	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Curtobacterium	Curtobacterium albidum	99,29
27	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Curtobacterium	Curtobacterium flaccumfaciens	99,44
28	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Curtobacterium	Curtobacterium oceanosedimentum	97,59
29	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Glaciibacter	Glaciibacter superstes	99,8
30	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leifsonia	Leifsonia aquatica	100
31	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leifsonia	Leifsonia poae	100
32	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leifsonia	Leifsonia xylifera	100
33	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Microbacterium	Microbacterium aurum	99,59
34	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Microbacterium	Microbacterium oxydans	99,43
35	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Pseudoclavibacter	Pseudoclavibacter helvolus	100
36	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Subtercola	Subtercola frigoramans	99,73
37	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter citreus	97,01
38	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter crystallopoietes	99,65
39	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter oxydans	99,36
40	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaceae	Arthrobacter	Arthrobacter sp.	100
41	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaceae	Kocuria	Kocuria rosea	99,54
42	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaceae	Rothia	Rothia dentocariosa	98,06
43	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaceae	Rothia	Rothia mucilaginosa	100
44	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	Actinoplanes liguriensis	99,88
45	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	Actinoplanes philippinensis	99,61
46	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Micromonospora	Micromonospora chokriensis	99,38
47	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Micromonospora	Micromonospora echinospora	99,6
48	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Micromonospora	Micromonospora pattalooensis	100
49	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Micromonospora	Micromonospora peuceetia	100
50	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium farcinogenes	100
51	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium gilvum	100
52	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium haemophilum	99,17
53	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium intracellulare	100
54	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium petroleophilum	99,49
55	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium sp. CH-2	99,61
56	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium sp. JS621	100
57	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium sp. SPYrGe1	98,05
58	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardiaceae	Nocardia	Nocardia vacinii	100
59	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardiaceae	Rhodococcus	Rhodococcus erythropolis	100
60	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardiaceae	Rhodococcus	Rhodococcus rhodii	99,37
61	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Aeromicrobium	Aeromicrobium marinum	95,44
62	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae albus	98,94
63	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae sp.	99,96
64	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae sp. AN3	99,22
65	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae sp. CF8	100
66	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae sp. DN36	100
67	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae sp. JS614	98,9
68	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae sp. MTD22	99,01
69	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Pimelobacter	Pimelobacter simplex	99,82
70	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioideae	Nocardioideae composita	100
71	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Promicromonosporaceae	Cellulosimicrobium	Cellulosimicrobium sp. HY-13	99,64
72	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Amycolatopsis	Amycolatopsis methanolica	99,21
73	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Lentzea	Lentzea violacea	100
74	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Pseudonocardia	Pseudonocardia satumea	99,64
75	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	Streptomyces acrimycinii	100



**Tabla 14, b. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera del arroz, obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
76	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	Streptomyces aureus	100
77	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	Streptomyces davuligerus	100
78	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	Streptomyces violaceolatus	100
79	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Streptosporangiaceae	Microbispora	Microbispora rosea	100
80	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Thermomonosporaceae	Unclassified (derived from Thermomonosporaceae)	actinomycete 7501	98,33
81	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	Bifidobacterium pseudolongum	100
82	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Rubrobacteriales	Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	Rubrobacter xylanophilus	100
83	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	Bacteroides intestinalis	98,46
84	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Parabacteroides	Parabacteroides distans	100
85	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Parabacteroides	Parabacteroides goldsteiri	100
86	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Parabacteroides	Parabacteroides gordorii	100
87	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Porphyromonas	Porphyromonas macacae	96,77
88	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Rikenellaceae	Alistipes	Alistipes flegeldii	100
89	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Cytophaga	Cytophaga sp.	100
90	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Flexibacter	Flexibacter elegans	100
91	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Flexibacter	Flexibacter flexilis	100
92	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter aerophilus	100
93	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter antarcticus	99,25
94	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter fastidiosus	100
95	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter ocellatus	99,67
96	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter sp. VJG-A141a	100
97	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Capnocytophaga	Capnocytophaga gingivalis	100
98	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	Chryseobacterium formosense	100
99	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	Chryseobacterium gleum	98,68
100	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	Chryseobacterium soldanellicola	98,76
101	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	Flavobacterium johnsoniae	99,98
102	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	Flavobacterium psychrophilum	97,51
103	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	Flavobacterium sp.	98,79
104	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	Flavobacterium sp. SOC A4(12)	100
105	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Myroides	Myroides odoratimimus	100
106	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Riemerella	Riemerella columbina	100
107	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Riemerella	Riemerella sp. IPDH 98/90	100
108	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Tenacibaculum	Tenacibaculum amylobiticum	100
109	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	Pedobacter heparinus	98,79
110	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	Pedobacter sp. 4236	100
111	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	Pedobacter sp. MJ11	97,17
112	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	Sphingobacterium multivorum	100
113	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Unclassified (derived from Sphingobacteriaceae)	Sphingobacteriaceae bacterium SOC A20(36)	99,99
114	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Unclassified (derived from Sphingobacteriales)	Terimonas	Terimonas ferruginea	99,23
115	Bacteroidetes	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Bacteroidetes Order II. Incertae sedis	Rhodothermaceae	Salinibacter	Salinibacter ruber	100
116	Bacteroidetes	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Candidatus Amoebophilus	Candidatus Amoebophilus asiaticus	100
117	Bacteroidetes	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Prolixibacter	Prolixibacter belarii vorans	100
118	Bacteroidetes	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	marine CFB-group bacterium MBIC01599	100
119	Chloroflexi	Chloroflexi (class)	Chloroflexales	Chloroflexaceae	Chloroflexus	Chloroflexus aurantiacus	100
120	Chloroflexi	Chloroflexi (class)	Chloroflexales	Oscillochloridaceae	Oscillochloris	Oscillochloris trichoides	99,4
121	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Chroococcales	Unclassified (derived from Chroococcales)	Cyanothece	Cyanothece sp. WH 8902	100
122	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Chroococcales	Unclassified (derived from Chroococcales)	Cyanothece	Cyanothece sp. WH 8904	100
123	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Chroococcales	Unclassified (derived from Chroococcales)	Microcystis	Microcystis aeruginosa	100
124	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Chroococcales	Unclassified (derived from Chroococcales)	Synechococcus	Synechococcus sp. PCC 7920	99,38
125	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Chroococcales	Unclassified (derived from Chroococcales)	Synechococcus	Synechococcus sp. UH7	100
126	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Chroococcales	Unclassified (derived from Chroococcales)	Unclassified (derived from Chroococcales)	unidentified cyanobacterium CLg1	100
127	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Nostocaceae	Nostoc	Nostoc cameum	100
128	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Nostocaceae	Nostoc	Nostoc sp. PCC 7423	98,7
129	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Rivulariaceae	Calothrix	Calothrix sp. PCC 7101	100
130	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Rivulariaceae	Calothrix	Calothrix sp. PCC 7103	100
131	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Scytonemataceae	Scytonema	Scytonema sp. IAM M-262	100
132	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Leptolyngbya	Leptolyngbya foveolarum	100
133	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Lyngbya	Lyngbya majuscula	100
134	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Lyngbya	Lyngbya wollei	100
135	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Microcoleus	Microcoleus dithonoplastes	100

**Tabla 14, c. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera del arroz, obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
136	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Oscillatoria	Oscillatoria sp. PCC7112	100
137	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Planktothrix	Planktothrix rubescens	100
138	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Pseudanabaena	Pseudanabaena sp. PCC6903	97,58
139	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Spirulina	Spirulina laxissima	100
140	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Oscillatoriales cyanobacterium JSC-1	100
141	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Uncultured cyanobacterium	100
142	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	Deinococcus deserti	100
143	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	Deinococcus ficus	100
144	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	Deinococcus geothermalis	100
145	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	Deinococcus grandis	99,98
146	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus aquimaris	99,99
147	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus azotofomans	98,83
148	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus cereus	99,64
149	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus firmus	100
150	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus flexus	98,78
151	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus megaterium	99,63
152	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus methanolicus	99,79
153	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus simplex	100
154	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp.	100
155	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. BT97	99,77
156	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. JL-26	100
157	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. MB-11	99,62
158	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. m3-13	99,76
159	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus alginolyticus	100
160	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	Kurthia	Kurthia sibirica	99,54
161	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	Planomicrobium	Planomicrobium chinense	100
162	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	Ureibacillus	Ureibacillus thermosphaericus	100
163	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus oehni	100
164	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Thermoactinomycetaceae	Laceyella	Laceyella putida	100
165	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Unclassified (derived from Bacillales)	Exiguobacterium	Exiguobacterium acetyficum	99,56
166	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Unclassified (derived from Bacillales)	Exiguobacterium	Exiguobacterium aurantiacum	
167	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Unclassified (derived from Bacillales)	Exiguobacterium	Exiguobacterium sibiricum	98,41
168	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Unclassified (derived from Bacillales)	Exiguobacterium	Exiguobacterium sp. CNU020	100
169	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Unclassified (derived from Bacillales)	Exiguobacterium	Exiguobacterium undae	99,25
170	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Camobacteriaceae	Trichococcus	Trichococcus pasteurii	99,35
171	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus silesiacus	100
172	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Pediococcus	Pediococcus acidilactici	100
173	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus	Lactococcus lactis	100
174	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium acetobutylicum	97,04
175	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium baratii	95,95
176	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium botulinum	100
177	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium sporicum	100
178	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium drakei	99,86
179	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium sp. Kas107-1	99,37
180	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium taeniosporum	99,02
181	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Sarcina	Sarcina ventriculi	100
182	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiales Family XI. Incertae Sedis	Anaerococcus	Anaerococcus prevotii	100
183	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiales Family XI. Incertae Sedis	Sporanaerobacter	Sporanaerobacter acetigenes	100
184	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiales Family XII. Incertae Sedis	Fusibacter	Fusibacter paucivorans	100
185	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiales Family XVII. Incertae Sedis	Thermaerobacter	Thermaerobacter marianensis	100
186	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Eubacteriaceae	Acetobacterium	Acetobacterium woodii	100
187	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Eubacteriaceae	Eubacterium	Eubacterium rectale	100
188	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	Butyrivibrio	Butyrivibrio fibrisolvens	100
189	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptococcaceae	Desulfosporosinus	Desulfosporosinus orientis	100
190	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptococcaceae	Desulfotomaculum	Desulfotomaculum sapomandens	100
191	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	Peptostreptococcus anaerobius	100
192	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Unclassified (derived from Peptostreptococcaceae)	Peptostreptococcus [Clostridium] lituseburensis	100
193	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Ruminococcaceae	Ruminococcus	Ruminococcus flavefaciens	100
194	Firmicutes	Clostridia	Thermoanaerobacterales	Thermoanaerobacterales Family III. Incertae Sedis	Caldicellulosiuptor	Caldicellulosiuptor saccharolyticus	98,51
195	Firmicutes	Negativicutes	Selenomonadales	Veillonellaceae	Veillonella	Veillonella montpellierensis	100

**Tabla 14, d. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera del arroz, obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
196	Nitrospirae	Nitrospira (class)	Nitrospirales	Nitrospiraceae	Candidatus Magnetobacterium bavaricum	Candidatus Magnetobacterium bavaricum	100
197	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Isosphaera	Isosphaera pallida	100
198	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Pirellula	Pirellula staleyi	100
199	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces	Planctomyces limnophilus	100
200	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces	Planctomyces maais	100
201	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Rhodopirellula	Rhodopirellula bálica	100
202	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Asticcacaulis	Asticcacaulis biprosthedum	100
203	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	Brevundimonas bacteroides	100
204	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	Brevundimonas bullata	99,49
205	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	Brevundimonas intermedia	98,74
206	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	Brevundimonas sp. Gc-2-c	96,55
207	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Caulobacter	Caulobacter fusiformis	99,15
208	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Caulobacter	Caulobacter vibrifidus	99,4
209	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Phenyllobacterium	Phenyllobacterium lituiforme	100
210	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bartonellaceae	Bartonella	Uncultured Bartonella sp.	100
211	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	Methylocapsa	Methylocapsa acidiphila	99,16
212	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Blastobacter	Blastobacter aggregatus	99,56
213	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Bosea	Bosea sp. CRIB-12	100
214	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Bosea	Bosea sp. CRIB-13	100
215	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Bosea	Bosea vestrisii	100
216	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Bosea	Uncultured Bosea sp.	99,4
217	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Bradyrhizobium	Bradyrhizobium elkanii	100
218	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Bradyrhizobium	Bradyrhizobium japonicum	99,12
219	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Rhodopseudomonas	Rhodopseudomonas palustris	99,95
220	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	Ochrobactrum	Ochrobactrum sp. CCB4U 61222	99,27
221	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	Ochrobactrum	Uncultured Ochrobactrum sp.	99,33
222	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	Pseudochrobactrum	Pseudochrobactrum sp. KSS 7.8	99,02
223	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium aquaticum	97,87
224	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium hispanicum	99,17
225	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium komagatae	98,9
226	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium radiotolerans	99,49
227	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium rhodinum	99,58
228	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium sp. CBMB38	100
229	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Uncultured Methylobacterium sp.	100
230	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylocystaceae	Methylolipia	Methylolipia capsulata	100
231	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylocystaceae	Methylosinus	Methylosinus trichosporium	96,14
232	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	Mesorhizobium alhai	98,75
233	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	Mesorhizobium camethomi	99,52
234	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium lamy-moorei	100
235	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium tumefaciens	99,56
236	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium viitis	98,89
237	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Ensifer	Ensifer adhaerens	99,92
238	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium etli	100
239	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium gallium	99,96
240	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium huautlense	97,14
241	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium leguminosarum	99,06
242	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium oryzae	99,27
243	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium sp. J3-AN59	99,19
244	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium sp. NCHA22	100
245	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium sp. YAS34	99,93
246	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium tropici	100
247	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium yanglingense	99,67
248	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Uncultured Rhizobium sp.	100
249	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Sinorhizobium	Sinorhizobium fredii	100
250	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Sinorhizobium	Sinorhizobium meliloti	100
251	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Sinorhizobium	Sinorhizobium xinjiangense	100
252	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhodobiaceae	Rhodobium	Rhodobium orientis	99,14
253	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Ancylobacter	Ancylobacter dichloromethanicus	100
254	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Azorhizobium	Azorhizobium caulinodans	99,79
255	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Unclassified (derived from Rhizobiales)	Unclassified (derived from Rhizobiales)	Uncultured Rhizobiales bacterium	99,58
256	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	Paracoccus sp. R-24652	100
257	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter	Rhodobacter azotofomans	100
258	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter	Rhodobacter sphaeroides	99,24
259	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Unclassified (derived from Rhodobacteraceae)	Uncultured Rhodobacteraceae bacterium	100
260	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Unclassified (derived from Rhodobacterales)	Unclassified (derived from Rhodobacterales)	Uncultured Rhodobacterales bacterium	100
261	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	Acetobacter	Acetobacter indonesiensis	100
262	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Azospirillum	Azospirillum ipoferum	99,99
263	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Nisaea	Nisaea denitrificans	100
264	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Anaplasmataceae	Anaplasma	Anaplasma centrale	100
265	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	Rickettsia	Uncultured Rickettsia sp.	100
266	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Erythrobacteraceae	Erythromicrobium	Erythromicrobium ramosum	96,96
267	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	Novosphingobium aromaticivorans	100
268	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	Novosphingobium capsulatum	99,93
269	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingobium	Sphingomonas agrestis	100
270	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas azotifigens	98,6

**Tabla 14, e. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera del arroz, obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
271	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas melonis	99,7
272	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas sp.	97,97
273	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas sp. AO1	99,51
274	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas sp. Alpha4-2	100
275	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas sp. BR12254	96,58
276	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Uncultured alpha proteobacterium	99,76
277	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	Achromobacter xylosoxidans	100
278	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	Uncultured Achromobacter sp.	99,28
279	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia fungorum	100
280	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia pseudomallei	99,37
281	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia sp. JPY479	99,54
282	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Uncultured Burkholderia sp.	100
283	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Pandoraea	Pandoraea pnomenus	99,44
284	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Ralstonia	Ralstonia solanacearum	100
285	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Ralstonia	Uncultured Ralstonia sp.	97,03
286	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Acidovorax	Acidovorax facilis	100
287	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Pelomonas	Pelomonas paraquae	99,54
288	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Pseudacidovorax	Pseudacidovorax intermedius	100
289	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Verminephrobacter	Uncultured Verminephrobacter sp.	100
290	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Herbaspirillum	Herbaspirillum huttiense	100
291	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Herbaspirillum	Herbaspirillum seropedicæ	96,91
292	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Massilia	Massilia timonæ	98,42
293	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Oxalobacter	Oxalobacter formigenes	95,57
294	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Unclassified (derived from Burkholderiales)	Roseateles	Roseateles depolymerans	99,33
295	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Unclassified (derived from Burkholderiales)	Roseateles	Roseateles terrae	98,53
296	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Unclassified (derived from Burkholderiales)	Unclassified (derived from Burkholderiales)	Uncultured Burkholderiales bacterium	99,69
297	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Methylophilales	Methylophilaceae	Methylophilus	Methylophilus sp. Ship	99,56
298	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Chromobacterium	Chromobacterium viduaceum	100
299	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Laribacter	Laribacter hongkongensis	100
300	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Azospira	Azospira oryzae	100
301	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Uncultured beta proteobacterium	98,98
302	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio	Bdellovibrio bacteriovorus	98,53
303	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Desulfobacterales	Desulfobacteraceae	Desulfonema	Desulfonema magnum	100
304	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Desulfobacterales	Desulfobulbaceae	Desulfobulbus	Uncultured Desulfobulbus sp.	99,51
305	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Cystobacteraceae	Cystobacter	Angiococcus disciformis	100
306	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Cystobacteraceae	Melittangium	Melittangium lichenicola	98,04
307	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Myxococcaceae	Myxococcus	Myxococcus fuvus	100
308	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Polyangiaceae	Chondromyces	Chondromyces apiculatus	100
309	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Uncultured delta proteobacterium	99,24
310	Proteobacteria	Epsilonproteobacteria	Unclassified (derived from Epsilonproteobacteria)	Unclassified (derived from Epsilonproteobacteria)	Unclassified (derived from Epsilonproteobacteria)	Uncultured epsilon proteobacterium	99,65
311	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Aeromonas	Aeromonas caviae	100
312	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Aeromonas	Aeromonas salmonicida	100
313	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	Alkalispillum	Alkalispillum sp. ACO3	100
314	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	Thioalkalivibrio	Thioalkalivibrio halophilus	100
315	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter amalonaticus	98,36
316	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter farmeri	95,32
317	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter youngae	100
318	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Cronobacter	Cronobacter sakazakii	99,95
319	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter cloacae	100
320	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter pyrinus	99,33
321	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Uncultured Enterobacter sp.	99,02
322	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Erwinia	Erwinia amylovora	100
323	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Erwinia	Erwinia toletana	100
324	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia coli	100
325	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia fergusonii	100
326	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella pneumoniae	100
327	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella sp. TT001	100
328	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Lonsdalea	Lonsdalea quercina	95,37
329	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea agglomerans	99,46
330	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea ananatis	98,3
331	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea oleae	100
332	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea sp. A0301	100
333	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea sp. A0305	100
334	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea sp. P0359	100
335	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea stewartii	99,1
336	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Salmonella	Salmonella borgori	100
337	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Samsonia	Samsonia erythrinae	99,52
338	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Serratia ficaria	100
339	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Serratia marcescens	100
340	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Serratia proteamaculans	100
341	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Uncultured Serratia sp.	100
342	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Shigella	Shigella flexneri	100

**Tabla 14, f. Distribución del dominio bacteriano asociado a la filósfera del arroz, obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
343	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Unclassified (derived from Enterobacteriaceae)	Uncultured Enterobacteriaceae bacterium	99,97
344	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Coxiellaceae	Coxiella	Coxiella burnetii	100
345	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	Legionella	Legionella anisa	100
346	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	Halomonas	Halomonas salina	100
347	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter baylyi	99,21
348	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter calcoaceticus	100
349	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter sp.	98,98
350	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Azotobacter	Azotobacter beijerinckii	100
351	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas aeruginosa	100
352	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas cichorii	100
353	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas fluorescens	100
354	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas jessenii	98,39
355	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas montelii	100
356	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas oryzae	98,29
357	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas putida	100
358	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas sp. R21-1	100
359	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas sp. RW10S2	99,62
360	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas sp. c306	99,18
361	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas viridiflava	100
362	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dyella	Dyella ginsengisoli	100
363	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia	100
364	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	Xanthomonas translucens	100
365	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Uncultured gamma proteobacterium	99,91
366	Proteobacteria	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Uncultured proteobacterium	99,95
367	Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma	Mycoplasma capricolum	100
368	Verrucomicrobia	Opitutae	Unclassified (derived from Opitutae)	Opitutaceae	Diplosphaera	Diplosphaera colterium	100
369	Verrucomicrobia	Opitutae	Unclassified (derived from Opitutae)	Opitutaceae	Opitutus	Opitutus sp. VeGlc2	100
370	Verrucomicrobia	Opitutae	Unclassified (derived from Opitutae)	Opitutaceae	Opitutus	Opitutus terrae	100
371	Verrucomicrobia	Spartobacteria	Unclassified (derived from Spartobacteria)	Unclassified (derived from Spartobacteria)	Chthoniobacter	Chthoniobacter flavus	99,98
372	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobia subdivision 3	Pedosphaera	Pedosphaera párvula	99,6
373	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Prostheco bacter	Prostheco bacter debontii	99,71
374	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Prostheco bacter	Prostheco bacter dejongeii	100
375	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Prostheco bacter	Prostheco bacter vanneervenii	98,03
376	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Verrucomicrobium	Verrucomicrobium spinosum	100
377	Verrucomicrobia	Unclassified (derived from Verrucomicrobia)	Unclassified (derived from Verrucomicrobia)	Unclassified (derived from Verrucomicrobia)	Unclassified (derived from Verrucomicrobia)	Uncultured Verrucomicrobia bacterium	100
378	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	bacterium enrichment culture clone N47	100
379	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	bacterium rJ10	99,31
380	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured bacterium	99,15
381	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured forest soil bacterium	95,29
382	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured marine bacterium	100
383	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured rumen bacterium	100
384	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured soil bacterium	99,8
385	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	unidentified marine eubacterium	100

**Nota:** Estos datos fueron calculados de los metagenomas 4670860.3 y fueron comparados con la base de datos Greengenes utilizando un e-valor máximo de 1e-5, una identidad mínima del 95%, y una longitud de alineación mínima de 20 pares de bases.

**Tabla 15, a. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas de arroz con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y *gyrB* de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
1	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Cellulomonas	Cellulomonas fimi	100
2	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	Corynebacterium variabile	99,64
3	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Geodermatophilaceae	Geodermatophilus	Geodermatophilus obscurus	100
4	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Kineosporiaceae	Kineococcus	Kineococcus aurantiacus	98,84
5	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Agromyces	Agromyces cerinus	100
6	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Curtobacterium	Curtobacterium albidum	98,52
7	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Rubrobacterales	Rubrobacteraceae	Rubrobacter	Rubrobacter radiotolerans	99,28
8	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter ocellatus	100
9	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	Chryseobacterium fimosense	96,28
10	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	Sphingobacterium multivorum	100
11	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Unclassified (derived from Sphingobacteriales)	Terrimonas	Terrimonas ferruginea	100
12	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	Deinococcus geothermalis	100
13	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Anoxybacillus	Anoxybacillus flavithermus	97,85
14	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus agaradhaerens	100
15	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus cereus	100
16	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus clarkii	100
17	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus coagulans	100
18	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus firmus	100
19	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus halodurans	100
20	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus megaterium	100
21	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Virgibacillus	Virgibacillus halodenitrificans	100
22	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Aneurinibacillus	Aneurinibacillus thermoaerophilus	100
23	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Brevibacillus	Brevibacillus brevis	100
24	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus alginolyticus	100
25	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus anaericanus	100
26	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus brasiliensis	100
27	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus daejeonensis	100
28	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus ehimensis	100
29	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus ginsengisoli	100
30	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus illinoisensis	100
31	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus larvae	100
32	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus lentimorbus	100
33	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus macerans	99,27
34	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus peoriae	100
35	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus polymyxa	99,34
36	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus sp. KSM-M86	100
37	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus sp. KSM-N440	100
38	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus xylanilyticus	96,5
39	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Camobacteriaceae	Camobacterium	Camobacterium maltaromaticum	96,55
40	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Camobacteriaceae	Trichococcus	Trichococcus pasteurii	99,4
41	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus faecalis	99,65
42	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus sulfureus	100
43	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Pediococcus	Pediococcus pentosaceus	100
44	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus	Lactococcus garvieae	100
45	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus	Lactococcus lactis	99,65
46	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium drakei	98,41
47	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium saccharobutylicum	100
48	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium sp. B901-1b	99,52
49	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium taenioporum	99,56
50	Firmicutes	Negativicutes	Selenomonadales	Veillonellaceae	Dialister	Dialister propionicifaciens	100
51	Firmicutes	Negativicutes	Selenomonadales	Veillonellaceae	Mitsuokella	Mitsuokella multacida	99,12
52	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium aquaticum	99,42
53	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium rhodinum	100
54	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	Mesorhizobium sp. CCNWX24-1	100
55	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium larymorei	99,92
56	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Uncultured Rhizobium sp.	100
57	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Azospirillum	Azospirillum lipoferum	100
58	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas melonis	98,33
59	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Uncultured alpha proteobacterium	100
60	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia cepacia	100

**Tabla 15, b. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas de arroz con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y *gyrB* de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
61	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia pseudomallei	100
62	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Ralstonia	Uncultured Ralstonia sp.	98,09
63	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Comamonas	Comamonas aquatica	99,53
64	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Variovorax	Variovorax sp. P7D1	100
65	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Herbaspirillum	Herbaspirillum seropedicæ	98,87
66	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Unclassified (derived from Burkholderiales)	Roseateles	Roseateles depolymerans	100
67	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Uncultured beta proteobacterium	99,27
68	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Aeromonas	Aeromonas caviae	100
69	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter farmeri	100
70	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter koseri	100
71	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter youngae	100
72	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Cronobacter	Cronobacter sakazakii	99,63
73	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter aerogenes	100
74	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter amnigenus	100
75	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter cloacae	99,99
76	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter hormaechei	100
77	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Uncultured Enterobacter sp.	98,23
78	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Erwinia	Erwinia amylovora	100
79	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Erwinia	Erwinia sp. SK-30-7	100
80	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Erwinia	Erwinia toletana	100
81	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia coli	99,67
82	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia fergusonii	99,45
83	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella granulomatis	99,43
84	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella oxytoca	97,78
85	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella pneumoniae	99,81
86	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella singaporensis	99,43
87	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella sp. TT001	100
88	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Lonsdalea	Lonsdalea quercina	97,15
89	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea agglomerans	99,22
90	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea ananatis	98,46
91	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea cypripedii	100
92	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea dispersa	100
93	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea stewartii	98,73
94	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pectobacterium	Pectobacterium carotovorum	100
95	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Raoultella	Raoultella omithinolytica	97,01
96	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Salmonella	Salmonella bongori	100
97	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Samsonia	Samsonia erythrinae	100
98	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Serratia marcescens	100
99	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Uncultured Serratia sp.	99,25
100	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Shigella	Shigella flexneri	99,45
101	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Unclassified (derived from Enterobacteriaceae)	Uncultured Enterobacteriaceae bacterium	99,22
102	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter baylyi	99,58
103	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter calcoaceticus	98,68
104	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas amygdali	100
105	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas cichorii	100
106	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas montelii	100
107	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas oryzae	97,38
108	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas pseudocaligenes	100
109	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas sp. MFY63	99,51
110	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas sp. XLDN4-9	99,22
111	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas sp. c306	100
112	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas stutzeri	99,31
113	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas viridiflava	100
114	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter	Rhodanobacter lindani	99,61
115	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia	99,75
116	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	Xanthomonas campestris	99,21
117	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	Xanthomonas translucens	99,98
118	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Reinekea	Reinekea blanderis	100
119	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Uncultured gamma proteobacterium	100

**Tabla 15, c. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas de arroz con síntomas de estar infectadas con *B. glumae* obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
120	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured bacterium	99,58
121	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured marine bacterium	100
122	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured soil bacterium	99,55

**Nota:** Estos datos fueron calculados de los metagenomas 4670860.3 y fueron comparados con la base de datos Greengenes utilizando un e-valor máximo de  $1e^{-5}$ , una identidad mínima del 95%, y una longitud de alineación mínima de 20 pares de bases.



**Tabla 16, a. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas sanas de arroz obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
1	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Kineosporiaceae	Kineococcus	Kineococcus aurantiacus	99,5
2	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Curtobacterium	Curtobacterium albidum	100
3	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Subtercola	Subtercola frigoramans	100
4	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micrococcaeae	Rothia	Rothia mucilaginsa	100
5	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	Mycobacterium sp.	99,02
6	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Tsakamurellaceae	Tsakamurella	Tsakamurella pulmonis	99,27
7	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Rubrobacterales	Rubrobacteraceae	Rubrobacter	Rubrobacter xylanophilus	100
8	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	Cyclobacterium	Cyclobacterium marinum	100
9	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Cytophaga	Cytophaga sp.	100
10	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Flexibacter	Flexibacter flexilis	100
11	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter antarcticus	95,36
12	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter ocellatus	100
13	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Hymenobacter	Hymenobacter sp. VUG-A141a	100
14	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	Chryseobacterium indologenes	99,02
15	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	Chryseobacterium soldanellicola	99,92
16	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	Chryseobacterium sp. KM	99,33
17	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Elizabethkingia	Elizabethkingia meningoseptica	98,53
18	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Tenacibaculum	Tenacibaculum amyolyticum	100
19	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	Pedobacter heparinus	99,49
20	Bacteroidetes	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Unclassified (derived from Bacteroidetes)	Candidatus Amoebophilus	Candidatus Amoebophilus asiaticus	100
21	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Nostocaceae	Nostoc	Nostoc commune	100
22	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Nostocaceae	Nostoc	Nostoc sp. 'Peltigera lepidophora cyanobiont'	98,25
23	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	Deinococcus geothermalis	100
24	Deinococcus-Thermus	Deinococci	Deinococcales	Deinococcaceae	Deinococcus	Deinococcus grandis	100
25	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus cereus	100
26	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus cohnii	100
27	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus megaterium	100
28	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. SH25	99,18
29	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. SH27	99,18
30	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus thuringiensis	100
31	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus brasiliensis	100
32	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus polymyxa	99,66
33	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus durans	100
34	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus faecalis	99,45
35	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus sulfureus	99,61
36	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus brevis	100
37	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus curvatus	99,62
38	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Pediococcus	Pediococcus acidilactici	99,64
39	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Leuconostocaceae	Leuconostoc	Leuconostoc lactis	100
40	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus	Lactococcus lactis	99,45
41	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium acetobutylicum	100
42	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium sp. B901-1b	100
43	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium stercorarium	100
44	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Unclassified (derived from Peptostreptococcaceae)	[Clostridium] bifementans	100
45	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Ruminococcaceae	Faecalibacterium	Faecalibacterium prausnitzii	100
46	Firmicutes	Negativicutes	Selenomonadales	Veillonellaceae	Megasphaera	Megasphaera elsdenii	100
47	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Pirellula	Pirellula staleyi	100
48	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Bradyrhizobium	Uncultured Bradyrhizobium sp.	99,25
49	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium aquaticum	100
50	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium	Methylobacterium rhodinum	99,58
51	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	Agrobacterium larrymoorei	99,61
52	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium oryzae	99,59

**Tabla 16, b. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas sanas de arroz obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
53	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium sp. CCBAU 23084	100
54	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	Rhizobium sp. PIP4	99,33
55	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingobium	Sphingobium yanokuyae	98,43
56	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	Sphingomonas melonis	99,25
57	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Uncultured alpha proteobacterium	98,99
58	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia cepacia	99,63
59	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia pseudomallei	100
60	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Ralstonia	Uncultured Ralstonia sp.	98,98
61	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus	Xenophilus azovorans	99,53
62	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Unclassified (derived from Burkholderiales)	Roseateles	Roseateles depolymerans	99,62
63	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Nitrosomonadales	Nitrosomonadaceae	Nitrospira	Nitrospira sp. N15	100
64	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Uncultured beta proteobacterium	98,94
65	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Cystobacteraceae	Melittangium	Melittangium lichenicola	100
66	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Uncultured delta proteobacterium	100
67	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter farmeri	100
68	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter freundii	100
69	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter koseri	99,64
70	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Citrobacter	Citrobacter youngae	100
71	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Cronobacter	Cronobacter sakazakii	97,8
72	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter pyrinus	99,08
73	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Uncultured Enterobacter sp.	100
74	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Erwinia	Erwinia toletana	100
75	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia coli	99,96
76	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	Escherichia fergusonii	100
77	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	Klebsiella pneumoniae	100
78	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Lonsdalea	Lonsdalea quercina	99,25
79	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea agglomerans	100
80	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea ananatis	97,24
81	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea cypripedii	100
82	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea dispersa	99,27
83	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Pantoea	Pantoea stewartii	99,12
84	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Serratia marcescens	96,02
85	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Serratia	Uncultured Serratia sp.	100
86	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Shigella	Shigella flexneri	100
87	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Unclassified (derived from Enterobacteriaceae)	Uncultured Enterobacteriaceae bacterium	98,82
88	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter baylyi	98,78
89	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter calcoaceticus	99,96
90	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter johnsonii	99,67
91	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter junii	100
92	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter lwoffii	97,09
93	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter rhizosphaerae	96,4
94	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter soli	99,11
95	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter sp.	97,81
96	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter sp. 93A2	98,55
97	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter sp. ADP1	99,83
98	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter sp. P1-6	96,68
99	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas chlororaphis	100
100	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas cichorii	100
101	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas oryzae habitans	98,56
102	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas pseudoalcaligenes	100

**Tabla 16, c. Distribución del dominio bacteriano asociado a las semillas sanas de arroz obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
103	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas stutzeri	99,38
104	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia	100
105	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	Xanthomonas translucens	99,64
106	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Uncultured gamma proteobacterium	97,41
107	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured bacterium	99,26
108	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured soil bacterium	99,86

**Nota:** Estos datos fueron calculados de los metagenomas 4670860.3 y fueron comparados con la base de datos Greengenes utilizando un e-valor máximo de 1e-5, una identidad mínima del 95%, y una longitud de alineación mínima de 20 pares de bases.

**Tabla 17, a. Distribución del dominio bacteriano asociado a la rizósfera del arroz obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

N°	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
1	Acidobacteria	Unclassified (derived from Acidobacteria)	Unclassified (derived from Acidobacteria)	Unclassified (derived from Acidobacteria)	Candidatus Koribacter	Candidatus Koribacter versatilis	97,63
2	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Cellulomonas	Cellulomonas fmi	100
3	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	Corynebacterium cyclohexanicum	100
4	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Geodermatophilaceae	Geodermatophilus	Geodermatophilus obscurus	99,59
5	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	Terrabacter	Terrabacter tumescens	99,29
6	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Actinoplanes	Actinoplanes utahensis	100
7	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Nocardioideae	Nocardioides	Nocardioides sp. MTD22	100
8	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Amycolatopsis	Amycolatopsis coloradensis	100
9	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Pseudonocardia	Pseudonocardia halophobica	99,42
10	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	Streptomyces maritimus	100
11	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Thermomonosporaceae	Actinomadura	Actinomadura formosensis	100
12	Actinobacteria	Actinobacteria (class)	Actinomycetales	Thermomonosporaceae	Actinomadura	Actinomadura pelletieri	100
13	Aquificae	Aquificae (class)	Aquificales	Hydrogenothemaceae	Persephonella	Persephonella guaymasensis	100
14	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Cytophaga	Cytophaga sp. MBIC04693	98,44
15	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Nostocales	Nostocaceae	Nostoc	Nostoc commune	98,24
16	Cyanobacteria	Unclassified (derived from Cyanobacteria)	Oscillatoriales	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Unclassified (derived from Oscillatoriales)	Oscillatoriales cyanobacterium JSC-1	100
17	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus anthracis	99,35
18	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus aquimaris	100
19	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus cereus	99,75
20	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus coahuilensis	97,35
21	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus cohnii	100
22	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus horikoshii	100
23	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus licheniformis	99,56
24	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus megaterium	100
25	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus mycoides	99,99
26	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp.	99,96
27	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. 91	100
28	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. NB-6	100
29	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus sp. Ob 07	100
30	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus thuringiensis	97,48
31	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus weihenstephanensis	98,7
32	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Lysinibacillus	Lysinibacillus sphaericus	100
33	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus apiarius	100
34	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus	Paenibacillus polymyxa	100
35	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	Viridibacillus	Viridibacillus arenosi	100
36	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus aureus	98,09
37	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus xylosus	100
38	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Thermoactinomycetaceae	Laceyella	Laceyella putida	100
39	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus	Enterococcus faecalis	100
40	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus	Lactobacillus plantarum	99,38
41	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Leuconostocaceae	Leuconostoc	Leuconostoc lactis	99,59
42	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Leuconostocaceae	Weissella	Weissella cibaria	100
43	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus	Lactococcus garvieae	100
44	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus	Lactococcus lactis	100
45	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Alkaliphilus	Alkaliphilus transvaalensis	100
46	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium estertheticum	100
47	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium haemolyticum	100

**Tabla 17, b. Distribución del dominio bacteriano asociado a la rizósfera del arroz obtenido mediante metagenómica molecular dirigida a la amplificación de los genes 16S ADN ribosomal y gyrB de la subunidad D de la girasa.**

Nº	FÍLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	IDENT (%)
48	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	Clostridium pasteurianum	100
49	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiales Family XI. Incertae Sedis	Sporanaerobacter	Sporanaerobacter acetigenes	100
50	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Eubacteriaceae	Eubacterium	Eubacterium ruminantium	100
51	Firmicutes	Negativicutes	Selenomonadales	Veillonellaceae	Megasphaera	Megasphaera elsdenii	100
52	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	Acetobacter	Acetobacter pasteurianus	98,72
53	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Unclassified (derived from Rhodospirillaceae)	Uncultured Rhodospirillaceae bacterium	100
54	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Unclassified (derived from Alphaproteobacteria)	Uncultured alpha proteobacterium	100
55	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	Achromobacter xylooxidans	100
56	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	Burkholderia cepacia	99,21
57	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Unclassified (derived from Betaproteobacteria)	Uncultured beta proteobacterium	99,48
58	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Desulfobacterales	Desulfobulbaceae	Unclassified (derived from Desulfobulbaceae)	Uncultured Desulfobulbaceae bacterium	100
59	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Unclassified (derived from Deltaproteobacteria)	Uncultured delta proteobacterium	100
60	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Methylococcales	Methylococcaceae	Methylochromium	Methylochromium buryatense	100
61	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter calcoaceticus	100
62	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dyella	Dyella ginsengisoli	100
63	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Unclassified (derived from Gammaproteobacteria)	Uncultured gamma proteobacterium	100
64	Proteobacteria	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Unclassified (derived from Proteobacteria)	Uncultured proteobacterium	100
65	Spirochaetes	Spirochaetia	Spirochaetales	Leptospiraceae	Leptonema	Leptonema illini	100
66	Spirochaetes	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae	Spirochaeta	Spirochaeta stenostrepta	100
67	Verrucomicrobia	Opitutae	Unclassified (derived from Opitutae)	Opitutaceae	Opitutus	Opitutus sp. VeGlc2	100
68	Verrucomicrobia	Opitutae	Unclassified (derived from Opitutae)	Opitutaceae	Opitutus	Opitutus terrae	100
69	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobia subdivisión	Pedosphaera	Pedosphaera parvula	100
70	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	bacterium enrichment culture clone N47	100
71	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured bacterium	99,67
72	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Unclassified (derived from Bacteria)	Uncultured soil bacterium	99,98

**Nota:** Estos datos fueron calculados de los metagenomas 4670860.3 y fueron comparados con la base de datos Greengenes utilizando un e-valor máximo de 1e-5, una identidad mínima del 95%, y una longitud de alineación mínima de 20 pares de bases.



**Figura 31. Materiales y equipos utilizados en el estudio: a) Micro tubo de 1.5 ml y tubo Power Bead b) Vortex y micropipetas c) Solución C6 y tubo Spin Filter d) Centrifuga e) Termociclador f) Transluminador.**

**Tabla 18, a. Características técnicas y usos de los equipos empleados en la presente investigación.**

<b>EQUIPO</b>	<b>CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS</b>	<b>USO</b>
<b>Vortex</b>	Vortex Mixer VX-200, rango de velocidad: 0-3400 rpm. Modos de operación: Modo continuo, modo touch Rango de temperatura: +4 °C a 65 °C Dimensiones: 14 x 16 x 13 cm. peso: 4.84 lb/2.2 kg. requerimiento eléctrico: 120V ~, 60Hz incluye transformador. Capacidad de adaptador adicional para tubos de 24 x 1.5/ 2.0 ml, 24 tubos de 0.5 ml y 32 tubos de 0.2 mL. (0 4 Tiras de tubos). Incluye: Adaptador (SO200-21), cable de conexión, instrucciones. Garantía 1 año.	Homogeniza Muestras
<b>Baño María digital</b>	Capacidad de 22 litros de trabajo, sistema de control de temperatura digital, pantalla LED digital, programación de temperatura digital hasta 99.9 °C. Estabilidad de +/- 0.01 °C, uniformidad de +/-, 0.01 °C, control de temperatura PID, alarma de sobrecalentamiento sobre los 2 °C, poder de calentamiento 1.0 KW, cabina de trabajo de acero inoxidable de una sola pieza. Sistema de circulación interna para mantener la temperatura, dimensiones: 50 x 29.5 x 15.5 cm.	Calentar muestras.
<b>Incubador</b>	Cámara resistente a la corrosión, 3 niveles de anaqueles fáciles de limpiar, puede almacenar hasta 48 placas Petri, puerto de entrada para la colocación de mezclador pequeño dentro de la cámara, puerta con gran área visual, luz piloto para indicar el calentamiento, termostato hidráulico para el control del calentamiento y la estabilidad de la temperatura. Elementos de calentamiento posicionados en la parte superior y hacia los lados de la estructura permitiendo una mejor estabilidad y uniformidad de la temperatura, puerto de entrada en la parte superior de la incubadora para el monitoreo de temperatura al interior de la cámara. Dimensiones externas: Ancho x profundidad x alto: 28.5 x 28 x 33.5 cm. Dimensiones internas: Ancho x profundidad x alto: 23 x 20 x 20 cm. Alimentación: 230 V ~ 50/60Hz. Peso: 8.3 kg. Rango de temperatura: 9.2 litros. Controles: análogos. Estabilidad: ± 0.6 °C a 37 °C. Uniformidad: 0.65 °C a 37 °C.	Incubar muestras
<b>Autoclave vertical</b>	Medidas internas: 30.4 cm x 52.4 cm (medida útil), C 304-2B, íntegramente de acero inoxidable, con doble pared, tapa con seguros en cruz y empaquetadura de cierre. Interruptor general con indicador luminoso. Manómetro indicador de presión. Termómetro de 0 a 160 grados °C/ Calibrado a 121 °C – 15. PSI para esterilizar. Reloj de 0 a 60 minutos. Válvula de seguridad, válvula de drenaje de agua para la limpieza. Incluye una canastilla y una tapa en acero inoxidable. Sistema eléctrico 220 Vol 60Hz. Modelo:	Esterilizar materiales.

**Tabla 18, b. Características técnicas y usos de los equipos empleados en la presente investigación.**

<b>EQUIPO</b>	<b>CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS</b>	<b>USO</b>
<b>pH-METRO</b>	Checker1, Catálogo: HI98103. Este modelo económico le proporciona lecturas rápidas y precisas, Cuenta con grandes dígitos LCD fáciles de leer, calibración: manual 2 puntos, electrodo; HI1270 (incluido), batería: 2 x 1.5V (aprox. 3 000 horas de uso continuo). Temperatura de ambiente: 0 a 50 °C; HR máx. 95%, rango: 0.00 a 14.00, resolución: 0.01, precisión: +/-0.2. Dimensiones: 66 x50 x 25mm.	Medir el pH
<b>Horno microondas</b>	Fuente de alimentación 220 V / 60 Hz, salida 1,000 vatios, potencia 1,500 vatios, 10 niveles de potencia, pantalla LED, controles de membrana, bandeja giratoria de microondas. Especificación física: Dimensiones brutas 57.9 x 37.6 x 43.1 cm. control de membrana. Características generales: Sonido de término disponible, Tiempo máximo de cocción 99 min y 99 s, Opción de 60 s más, Cocción automática, Opciones de sistema de reloj de 12 h, Seguro para niños disponible.	Calentar medios de cultivo.
<b>Balanza digital</b>	Modelo: CQT 601. Capacidad Máxima: 600g. Precisión: 0.1 g. Respetabilidad (S.D) 0.1 g. Linealidad (±): 0.1 g. Tamaño del plato: 4.7" Ø / 120 mm Ø. Tiempo de estabilización típico: 2 segundos. Unidades de medida: kilogramo (kg), Gramo (g), Libra (lb), Onza (oz), carate (ct), Dram (d) newton (N), Taels T (TLT). Fuente de alimentación: adaptador 12VAC 150 mA o 6x pilas AA. Dimensiones del protector de corriente de aire: 130 x 90 mm. Dimensiones totales: 6.8 x 10 x 3.4 / 173 x 255 x 86 mm.	Pesar insumos y muestras.
<b>Cámara Electroforesis Horizontal</b>	Tres bandejas distintas para tres tamaños: 15 x 7 cm, 15 x 10 cm y 15 x 15 cm. Capacidad de muestras: gel de 15 x 7 cm: 1 – 70 muestras, gel de 15 x 10 cm: 1 – 140 muestras y gel de 15 x 15 cm: 1 – 210 muestras. Volumen de tanque para buffer: 500 ml. Electroodos: 99.99 % resistente a la corrosión de platino puro. Condiciones típicas de corrido: 90 – 150 V, 60 – 90 minutos- Migración de Azul bromofenol: ~ 4 – 7 cm/h a 90 – 150 V. Dimensiones físicas: 17.5 cm x 26.5 cm x 9 cm (ancho x profundidad x altura). Requerimientos eléctricos: 90 – 150 V por 60 – 90 minutos.	Migrar ADN y amplicones.
<b>Termociclador</b>	Capacidad: Un módulo de reacción de 96 pocillos. Gradiente térmico. Precisión del gradiente: ±0.5 °C. Rango diferencial: 1-25 °C. Incubación instantánea. Velocidad máxima de rampeo 4 °C/seg. Pantalla 5.7" VGA Color, de manejo al tacto de alta resolución a color VGA, interfase	La técnica de reacción



**Tabla 18, c. Características técnicas y usos de los equipos empleados en la presente investigación.**

<b>EQUIPO</b>	<b>CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS</b>	<b>USO</b>
	<p>gráfica y programación automática. Puerto USB. Programación gráfica. Tapa fija. No se conecta a redes de Internet. Con licencia para PCR. Potencia de entrada: 400 W, máximo. Frecuencia 115-250 Voltios, 50-60 Hz, monofásico. Dimensiones: 26.2x 46.8x22.7 cm. Requiere pero no incluye una UPS On Line de doble conversión de al menos 1.6 KVA.</p>	<p>en cadena de la polimerasa.</p>
<b>Refrigeradora</b>	<p>RT25FAJADSP. Capacidad neta total de 255 litros. Sistema No Frost. Filtro desodorizante. Color: Silver. Multiflujo disponible. Compartimiento fresco. Repisas x 2 ea (deslizable x 1 ea). Repisas de vidrio. Caja para verduras y frutas.</p>	<p>Almacenar y conservar muestras.</p>

## DEDICATORIA

### Dedicado a:

La memoria de mi padre: Cayo Deidiera Deza Rodas, forjador de la familia Deza Navarrete.

Mi madre: Irma Zoila Navarrete Vda. de Deza, por su constante preocupación en la formación profesional de toda la familia, especialmente de sus hijos.

Mis hermanos Luis, Reynaldo, María, Martha, Lucero, Ana, Walter y Silvia, para que siempre nos mantengamos unidos.

Mis hijos Irma Maricarmen, Carlos Alberto y Carla Luisana, como estímulo y un grato recuerdo de quien los amara por siempre.

Mis sobrinos y sobrinas como estímulo para su superación profesional.

Mis colegas, alumnos y amigos de la Universidad Nacional de Tumbes, mención especial para los Técnicos Agropecuarios de Tumbes y Sullana.

## AGRADECIMIENTOS

Mi eterna gratitud a:

La Universidad Nacional de Tumbes por el apoyo y facilidades para la realización de los estudios de doctorado así como para la ejecución de la investigación

A la Empresa INCABIOTEC SAC. por el apoyo y las facilidades brindadas en la ejecución de la investigación, en especial al Ph D. Eric Louis Mialhe, Gerente General, al Ing. Dicson Sánchez Abad y al Bach. Jean Carlo Silva Álvarez.

Al Dr. Ramón García Seminario por su constante apoyo en el asesoramiento de la investigación

Al jurado por su valioso apoyo en la revisión y redacción de la investigación, Dr. Napoleón Puño Lecarnaque, Dr. Pedro Vertiz Querevalu, Dr. Adán Alvarado Bernuy, Dr. Leocadio Malca Acuña y de manera especial al Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila

A todos mis amigos quienes con su apoyo hicieron posible la realización de la presente investigación, en especial al Tec. Hernán Aquino Callirgos, y al Ing. Lucio Jiménez Domínguez.