



## FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DIVERSIDAD GENÉTICA Y FENOTÍPICA DE BACTERIAS PROMOTORAS DE  
CRECIMIENTO (PGPR) ASOCIADAS A *Theobroma cacao L.*

**Línea de investigación:**

**Genética, bioquímica y biotecnología**

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

**Autora:**

Crisostomo Panuera, Jhusepin Sheshira

**Asesor interno:**

Salas Asencios, Ramsés

ORCID: 0000-0002-4075-1736

**Asesor externo:**

Cumpa Velásquez, Liz Marjory

ORCID: 0000-0002-6711-2395

**Jurado:**

Robles Román, Margarita Elena

Rodrigo Rojas, María Elena

Yana Neira, Evelin Amparo

**Lima - Perú**

**2025**



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS  
DIVERSIDAD GENÉTICA Y FENOTÍPICA DE BACTERIAS PROMOTORAS DE  
CRECIMIENTO (PGPR) ASOCIADAS A *Theobroma cacao L.*

**Línea de investigación:**

**Genética, bioquímica y biotecnología**

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

**Autora:**

Crisostomo Panuera, Jhusepin Sheshira

**Asesor interno:**

Salas Asencios, Ramsés

ORCID: 0000-0002-4075-1736

**Asesor externo:**

Cumpa Velásquez, Liz Marjory

ORCID: 0000-0002-6711-2395

**Jurado:**

Robles Roman, Margarita Elena

Rodrugo Rojas, Maria Elena

Yana Neira, Evelin Amparo

Lima – Perú

**Dedicatoria**

*A mis abuelitos Espirita y Eugenio que, aunque no están conmigo, sé lo contentos que estarían por verme cumplir un objetivo más, A mi mamá Nieves, por todo el apoyo incondicional brindado y la motivación ejemplar de seguir adelante consiguiendo mis metas.*

## **Agradecimientos**

Al instituto de investigación ceja de selva por ser parte del proyecto GENCACAO, N° 30-2019-FONDECYT- BM-INC-INV.

A la PhD. Liz Cumpa Velasquez por la oportunidad de integrar al laboratorio de investigación de sanidad vegetal y por ser mi asesora y guiarme en el desarrollo de este trabajo, de igual manera agradecer a cada integrante del laboratorio de sanidad vegetal por el apoyo brindado en cada paso de enseñanza.

Agradezco al profesor Ramsés Salas por el apoyo durante mi formación académica y desarrollo de la presente tesis.

Agradesco a toda mi familia por su apoyo y por sus constantes palabras de aliento. Finalmente, agradesco a Charly Villagaray por sus palabras de aliento y como olvidar su palabra icónica señora T.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	8
<b>ABSTRACT.....</b>	9
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	10
<b>1.1. Descripción y formulación del problema.....</b>	10
<b>1.2. Antecedentes .....</b>	12
<b>1.3. Objetivos .....</b>	13
<b>1.3.1. <i>Objetivo general</i> .....</b>	13
<b>1.3.2. <i>Objetivos específicos</i> .....</b>	13
<b>1.4. Justificación .....</b>	13
<b>1.5. Hipótesis.....</b>	14
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	15
<b>2.1. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).....</b>	15
<b>2.2. Mecanismos de promoción de crecimiento .....</b>	15
<b>2.2.1. <i>Mecanismos de acción directos</i> .....</b>	15
<b>2.2.2. <i>Mecanismo de acción indirecto</i> .....</b>	17
<b>2.3. PGPR como herramienta para la agricultura sostenible .....</b>	18
<b>2.4. Cacao amazónico fino de aroma (<i>Theobroma cacao L.</i>).....</b>	18
<b>2.5. Importancia económica .....</b>	19
<b>III. MÉTODO .....</b>	20

<b>3.1.</b>	<b>Tipo de investigación .....</b>	20
<b>3.2.</b>	<b>Ámbito temporal y espacial.....</b>	20
<b>3.3.</b>	<b>Variables .....</b>	20
<b>3.4.</b>	<b>Población y muestra.....</b>	21
<b>3.5.</b>	<b>Instrumentos.....</b>	22
<i>3.5.1.</i>	<i>Equipos .....</i>	22
<i>3.5.2.</i>	<i>Medios de cultivo.....</i>	22
<i>3.5.3.</i>	<i>Reactivos.....</i>	22
<b>3.6.</b>	<b>Procedimientos .....</b>	23
<i>3.6.1.</i>	<i>Extracción de ADN .....</i>	23
<i>3.6.2.</i>	<i>Cuantificación del material genómico .....</i>	24
<i>3.6.3.</i>	<i>Caracterización genética y molecular .....</i>	24
<i>3.6.4.</i>	<i>Caracterización fenotípica de actividades PGPR .....</i>	25
<b>3.7.</b>	<b>Análisis de datos.....</b>	30
<i>3.7.1.</i>	<i>Herramientas bioinformáticas.....</i>	30
<i>3.7.2.</i>	<i>Herramientas estadísticas .....</i>	31
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	32
<b>4.1.</b>	<b>Identificación taxonómica .....</b>	32
<b>4.2.</b>	<b>Propiedades relacionadas a la promoción del crecimiento vegetal (PGPR).....</b>	35
<i>4.2.1.</i>	<i>Capacidad solubilizadora de fosfato.....</i>	35

4.2.2. <i>Caracterización de bacterias solubilizadoras de zinc .....</i>	37
4.2.3. <i>Caracterización de bacterias productoras de sideróforos.....</i>	38
4.2.4. <i>Ensayo de capacidad antagónica contra Moniliophthora roreri .....</i>	39
4.2.5. <i>Capacidad de remoción de cadmio .....</i>	41
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	44
VI. CONCLUSIONES.....	48
VII. RECOMENDACIONES .....	49
VIII. REFERENCIAS.....	50
IX. ANEXOS.....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa del área de estudio y ubicación de las tres zonas de muestreo, Amazonas .....	21
<b>Figura 2.</b> Árbol filogenético de máxima verosimilitud, que muestra la posición filogenética de las bacterias asociadas a la rizósfera de <i>Theobroma cacao</i> . ....	34
<b>Figura 3.</b> Abundancia relativa de bacterias asociadas a la rizósfera de <i>Theobroma cacao</i> .. ....	35
<b>Figura 4.</b> Imagen referencial del ensayo de solubilización de fosfato en medio selectivo NBRIP, las flechas indican la formación del halo de solubilización. ....	36
<b>Figura 5.</b> Las barras representan la media de tres réplicas biológicas ± SE (error estándar). .	37
<b>Figura 6.</b> Ensayo de solubilización de zinc en medio Tris – minimal médium. ....	38
<b>Figura 7.</b> Ensayo de producción de sideróforos el medio Cromo Azurol Agarizado. ....	39
<b>Figura 8.</b> Producción de sideróforos. ....	39
<b>Figura 9.</b> Fotografía referencial del ensayo de antagonismo frente al hongo fitopatógeno <i>Moniliophthora roreri</i> .....	40
<b>Figura 10.</b> (A) diagrama de torta a los 7 y 15 días de enfrentamiento. (B) diagrama de barras donde se aprecia los géneros más abundantes a los 7 y 15 días de enfrentamiento. ....	41
<b>Figura 11.</b> Imágenes referenciales de la prueba de tolerancia a cadmio.....	42
<b>Figura 12.</b> Técnica de “Drop plate” en cepas tolerantes utilizando el medio TY(Control) y TY modificado (100 y 200 ppm). ....	43
<b>Figura 13.</b> Eficiencia de eliminación de cadmio. Las barras representan la media de tres réplicas ± la desviación estándar (SE). ....	43

## RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo caracterizar y analizar la diversidad de una colección de bacterias promotoras de crecimiento asociadas a cacao nativo fino de aroma (*Theobroma cacao* L.). La población estuvo conformada por 88 cepas aisladas de la rizósfera de cacao, la evaluación de estas se realizó entre los meses de marzo - noviembre 2022, donde se llevó a cabo la extracción de ADN, la identificación y la construcción de un árbol filogenético. Asimismo, se determinó las características fenotípicas de bacterias PGPR, tales como: capacidad solubilizadora de Zinc y Fosfato, capacidad de remoción de cadmio, producción de sideróforos y la capacidad antagónica frente al patógeno *Moniliophthora roreri*. Donde se identificaron 23 géneros diferenciales, mostrando un dominio del género *Bacillus*. De igual manera se determinó la capacidad antagónica frente al patógeno *Moniliophthora roreri* en dos tiempos (7 y 15 día), a los 7 días un 56,8% de presentaron un índice superior al 75%, por otro lado, el enfrentamiento a los 15 días el 68.2% mostraron un índice superior al 75% y en ambos tiempos de evaluación se presentó un dominio del género *Bacillus*. Por lo contrario, solo el 4,5% de los aislamientos presentaron la capacidad para eliminar cadmio y solubilizar Zinc, el 13,63% produjo sideróforos y el 20,45% solubilizaron fosfato.

*Palabras claves:* PGPR, bacterias, cacao, rizósfera, agricultura sostenible

## ABSTRACT

The objective of this thesis was to characterize and analyze the genetic diversity of a collection of growth-promoting bacteria associated with native fine aroma cocoa (*Theobroma cacao* L.). The population was made up of 88 strains isolated from the cocoa rhizosphere. The evaluation of these was carried out between the months of March - November 2022, where DNA extraction, identification and construction of a phylogenetic tree were carried out. Likewise, the phenotypic characteristics of PGPR bacteria were determined, such as: Zinc and Phosphate solubilizing capacity, cadmium removal capacity, siderophore production and antagonistic capacity against the pathogen *Moniliophthora roreri*. Where 23 differential genera were identified, showing a dominance of the *Bacillus* genus. Likewise, the antagonistic capacity against the pathogen *Moniliophthora roreri* was determined twice (7 and 15 days). While 56.8% of the population showed AI greater than 75% at 7 days, this behavior was observed in 68.2% of the bacteria at 15 days. During the confrontation test, the dominance of the *Bacillus* genus was observed. On the contrary, only 4.5% of the isolates had the ability to eliminate cadmium and solubilize Zinc, 13.63% produced siderophores and 20.45% solubilized phosphate.

**Keywords:** PGPR, bacteria, cocoa, rhizosphere, diversity

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Descripción y formulación del problema

Se estima que el cultivo de cacao se originó hace unos 5300 años en la región del alto amazonas entre Perú y Ecuador (Díaz et al., 2020; Zarrillo et al., 2018), siendo el territorio peruano, parte del centro de origen del cultivo y de la mayor diversidad genética de *Theobroma cacao* L. (Motamayor et al., 2008). Según el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI, 2016), en la región Amazonas, las provincias de Bagua y Utcubamba son consideradas las principales zonas productoras, debido a las condiciones meteorológicas que favorecen al desarrollo del árbol de cacao, que en armonía con otros factores abióticos y humanos conducen a obtener un grano con características organolépticas (aroma y sabor) diferenciadoras, que dan lugar a su reconocimiento (Quiñones et al., 2018).

El Perú tiene el segundo lugar como productor y exportador de cacao fino de aroma, cuyas propiedades organolépticas resultan altamente atractivas para las industrias gourmet (Oliva y Jorge, 2020). No obstante, su productividad se ve severamente limitada por los problemas que presenta. A pesar de la importancia y el potencial económico, social y cultural del cultivo de cacao, este presenta una serie de limitaciones que ponen en riesgo su productividad. Por ejemplo, entre las principales problemáticas se encuentra la tendencia a la acumulación de metales pesados como el cadmio (Cd), que por su acumulación en los frutos genera como consecuencia altas concentraciones de este elemento en productos derivados del cacao (Arévalo, 2016; Llatance et al., 2018; Rofner, 2021; Zug et al., 2019). Cabe resaltar que el consumo de alimentos contaminados con Cd está considerado como un problema de salud pública (Chancay et al., 2022; Organización Mundial de la Salud [OMS], 2010). Por otro lado, el cacao fino de aroma se encuentra constantemente amenazado por fitopatógenos como *Moniliophthora roreri* causando necrosis

interna en los frutos, maduración prematura y manchas aceitosas, que provocan la pérdida total de la semilla provocando una disminución en la calidad y cantidad del cultivo (Bailey et al., 2018; Leiva et al., 2020). En el Perú, la moniliasis es la principal limitante en la producción de cacao, reduciendo hasta un 40% la producción, lo cual trae como consecuencia que muchas áreas de cacao sean abandonadas y reemplazadas por otras actividades rentables (Chochocca et al., 2022). De igual manera la escasa disponibilidad de nutrientes en suelos amazónicos, tales como nitrógeno y fosfato, perjudican el crecimiento del cultivo (Arévalo, 2016; Leiva et al., 2020; Rofner, 2021), puesto que se trata de suelos meteorizados que tienen poca retención de nutrientes catiónicos como son: Calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Margnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) y Potasio ( $\text{K}^+$ ) (Guerra, 2015), asimismo, los niveles de nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) y fosforo (P) se encuentran por debajo del nivel crítico de  $10 \mu\text{g/g-1}$  para suelos cacaoteros (Arévalo, 2016).

Es importante mencionar que los suelos agrícolas presentan altos índices de riqueza microbiana, siendo las bacterias los microorganismos más abundantes. Las comunidades bacterianas pueden alcanzar poblaciones que van entre  $10^6$  y  $10^7$  bacterias por gramo (g) de suelo (Zúñiga, 2008). Allí desempeñan una variedad de funciones clave para la sanidad del suelo y de sus huéspedes. Dentro de la comunidad de bacterias asociadas a planta, destaca el grupo de las rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR*), las cuales ejercen efectos benéficos en la planta a través de una variedad de mecanismos de acción directos e indirectos. El uso de las bacterias PGPR es una excelente alternativa biotecnológica para mejorar el rendimiento y calidad de cultivos de importancia agronómica. En ese contexto, este trabajo plantea como pregunta de investigación:

¿Cuál es la diversidad genética y fenotípica de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) asociadas a *Theobroma cacao L.*?

## 1.2. Antecedentes

El uso de bacterias promotoras de crecimiento es una estrategia que viene cobrando cada vez más importancia. Mediante una variedad de mecanismos, mejoran la nutrición y desarrollo de las plantas por lo que han logrado captar una considerable atención por su potencial como reemplazo o disminución del uso de agroquímicos, lo que conlleva a una serie de beneficios económicos y ecológicos, evitando perjuicios ambientales y colaborando con la sanidad del suelo. Por ejemplo, una cepa de *Bacillus subtilis* que fue aislada de la rizósfera de *Theobroma cacao* L. presentó un alto índice de solubilización de fosfato de 97,33% siendo beneficiosa para la producción agrícola por su alta actividad de PGPR (Koua et al., 2020). De igual manera, se ha demostrado que bacterias endófitas presentes en *Theobroma cacao* L. son capaces de solubilizar el fosfato tricálcico con un índice medio de 137,67% de solubilización, por lo que se le considera como biorremediador y biofertilizante de árboles de cacao (Ouattara et al., 2019).

Otros estudios realizados en cultivos de cacao son frente a fitopatógenos como *Moniliophthora roreri* demostraron su susceptibilidad frente a bacterias endófitas como *Bacillus* spp. evidenciando un elevado potencial para el control biológico (Vera et al., 2020).

En estudios relacionados sobre PGPR en otros cultivos, las bacterias promotoras de sideróforos asociados a *Medicago sativa* evidenciaron mejorar el efecto remediador de la alfalfa en suelos contaminados con metales (Carrillo et al., 2011). Efectos similares se observaron en el rendimiento de *Oryza sativa* por parte de cepas de *Acinetobacter* spp. con potencial capacidad solubilizadora de Zinc (Gandhi y Muralidharan, 2016). En vista del potencial biotecnológico de las bacterias PGPR para el desarrollo de herramientas sostenibles para la agricultura, en el presente trabajo de tesis se plantearon los siguientes objetivos.

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Caracterizar y analizar la diversidad de una colección de bacterias promotoras de crecimiento asociadas a cacao nativo fino de aroma (*Theobroma cacao L.*).

#### ***1.3.2. Objetivos específicos***

Caracterizar genotípicamente aislamientos bacterianos asociados a la rizósfera de *Theobroma cacao L.*

Evaluar las propiedades funcionales de los aislamientos bacterianos asociados a la rizósfera de *Theobroma cacao L.* tales como: producción de sideróforos, remoción de cadmio, capacidad antagónica, solubilización de fosfato (P) y zinc (Zn).

### **1.4. Justificación**

A pesar de la alta demanda del cacao a nivel mundial y siendo Perú el segundo productor y exportador de cacao fino de aroma (MINAGRI - DGPA - DEEIA, 2015; Oliva y Jorge, 2020), este cultivo se encuentra constantemente afectado por múltiples problemas (Llatance et al., 2018; Oliva et al., 2020), que deben ser abordado bajo un escenario de una agricultura sostenible, que permitan de mantener el rendimiento de los cultivos. Una de las alternativas para lograr la sostenibilidad en la producción agrícola, es el uso de microorganismos del suelo, como las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR, *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), que colonizan activamente la rizósfera (Posada et al., 2021). Estas bacterias ejercen efectos benéficos para el desarrollo de la planta, mediante una serie de mecanismos, que como se describe más adelante, están clasificados como directos e indirectos (Goswami et al., 2016). Asimismo, la

utilización de microorganismos en la agricultura obedece a principios ecológicos, buscando el buen funcionamiento y equilibrio en el agroecosistema. Uno de los puntos que se toman en cuenta en productos microbiológicos es la utilización de cepas nativas del agroecosistema en donde se pretende aplicar, con la finalidad de acoplarse fácilmente al medio ambiente (Cruz Cárdenas et al., 2021), siendo así este estudio relevante para la toma de decisiones en cuanto al uso y manejo de cepas para la producción del cultivo de cacao.

### **1.5. Hipótesis**

Ha: Existe una diversidad genética y fenotípica de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) asociadas a *Theobroma cacao* L.

Ho: No existe una diversidad genética y fenotípica de bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) asociadas a *Theobroma cacao* L.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR)

Son bacterias que prosperan en la rizósfera, de las cuales algunas, brindan beneficios a la planta mediante la promoción del crecimiento (Gray y Smith, 2005). Estas bacterias para colonizar la rizosfera responden a los exudados de la raíz, tales como los carbohidratos y los aminoácidos que estimulan la quimiotaxis de las PGPR hacia la superficie radicular de la planta (Somers et al., 2004). La quimiotaxis y la motilidad permiten a las bacterias movilizarse hacia las raíces de la planta, donde pueden beneficiarse de la fuente de carbono y energía (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000).

Algunas PGPR producen fitoestimulantes que mejoran directamente el crecimiento de las plantas y además de fijar nitrógeno atmosférico, secretan fitohormonas como son auxinas, citoquinas y giberelinas (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000), que son esenciales para la planta. Así mismo, la mayoría de estas bacterias son capaces de producir reguladores de crecimiento de forma continua, siempre y cuando las fitohormonas estén disponibles en la rizósfera (Bais et al., 2006).

### 2.2. Mecanismos de promoción de crecimiento

Las bacterias PGPR presentan efectos beneficiosos sobre las plantas, como son: La estimulación a la germinación, captación de nutrientes, aumento en el crecimiento y desarrollo vegetal. Así mismo, los mecanismos de acción de las PGPR se clasifican en dos tipos: directos e indirectos que se describen a continuación.

#### 2.2.1. *Mecanismos de acción directos*

Se entiende como mecanismos directos de promoción de crecimiento a aquellos procesos estrechamente relacionados con la nutrición de la planta, estos colaboran con el suministro de

nutrientes importantes como el nitrógeno, fósforo, potasio y otros elementos esenciales. Algunos de estos mecanismos se describen a continuación:

**2.2.1.1. Fijación de nitrógeno.** El nitrógeno es un elemento esencial en la composición de proteínas y ácidos nucleicos; sin embargo, el N<sub>2</sub> no puede ser aprovechado por la mayoría de las formas vivientes debido al doble enlace que presenta entre los dos átomos de nitrógeno, es por ello que solo un grupo pequeño de microorganismos altamente especializados pueden aprovecharlo, como es el caso de algunas bacterias, algas y *Actinomyces* (Mayz Figueroa, 2004).

Para ser utilizado en el crecimiento de las plantas, este debe ser reducido y luego fijado de forma iones amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) o nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). El proceso por el cual los microorganismos reducen el nitrógeno hasta la forma soluble es conocido como Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) (Mayz Figueroa, 2004). Estas bacterias evolutivamente han adquirido genes que codifican para la enzima nitrogenasa e inducen la formación de nódulos por interacciones químicas con la planta, debido a que si no hay una interacción bidireccional no hay simbiosis ni fijación (Santi et al., 2013).

**2.2.1.2. Solubilización de fosfato.** El fósforo es un macronutriente limitante para las plantas, debido a que estas solo lo pueden absorber de dos formas iónicas solubles, la monobásica (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>) y la dibásico (HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) (Kumar Jha y Saraf, 2015). Afortunadamente, algunas bacterias PGPR tienen la capacidad de solubilizar fosfato soluble a partir de fosfato inorgánico insoluble, el cual se da por la disminución del pH del medio extracelular hasta valores de 2.0 que es necesario para llevar a cabo la solubilización, este fenómeno se origina por la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular por parte de los microorganismos, cuyas

propiedades quelantes favorecen la formación de complejos insolubles con metales, con la consecuente liberación del fosfato (Beltrán Pineda, 2014).

### **2.2.2. *Mecanismo de acción indirecto***

Se define como una acción indirecta por parte de la PGPR, que pueden contribuir mediante la inducción de resistencia a fitopatógenos, el control biológico de enfermedades, la producción de sideróforos y antibióticos.

**2.2.2.1. Producción de sideróforos.** El hierro es un micronutriente esencial para casi todos los seres vivos, que juega un papel importante en el metabolismo (Rout y Sahoo, 2015). El hierro se encuentra en el suelo en grandes cantidades de forma insoluble, es por ello que algunas bacterias han desarrollado estrategias específicas, como la producción de sideróforos (Ahmed y Holmström, 2014), que consiste en captar el hierro de forma  $\text{FeSO}_4$  y convertirlo en  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , de ese modo el hierro puede ser captado por las plantas por medio del mecanismo de transporte activo (Glick et al., 1998).

**2.2.2.2. Antagonismo microbiano.** El antagonismo microbiano está dado por la inhibición, deterioro o muerte de una especie de microorganismos por la acción de otra, muchos microorganismos saprófitos de la rizósfera y de la filosfera, al igual que de la epiflora que existe en la superficie de la hoja, tienen la capacidad de proteger contra patógenos (Pérez et al., 2014). De acuerdo a Tejera (2012), se ha demostrado que “los microorganismos presentan un potencial como control biológico de patógenos. Asimismo, entre los mecanismos involucrados en este proceso se encuentran, la relación de competencia, la producción de antibióticos, enzimas y de otras sustancias como sideróforos, que les permiten ejercer su capacidad biocontroladora.

### **2.3. PGPR como herramienta para la agricultura sostenible**

En la actualidad, la agricultura está asociada a múltiples problemas ambientales, es por ello que las prácticas agrícolas se deben enfocar en una agricultura sostenible para preservar los agroecosistemas, una de las alternativas para lograr esto está el uso de microorganismo del suelo, como son las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), que se encuentran en la rizósfera brindando un efecto benéfico para el desarrollo de las plantas (Posada et al., 2021).

La fabricación y aplicación de inoculantes compuestos por diversos microorganismos es una aplicación bien conocida en la agricultura. Actualmente en el ámbito de la sostenibilidad, la búsqueda de nuevos microorganismos con propiedades que promueven el crecimiento de las plantas, es una línea de investigación que va en aumento, ya que pueden reemplazar parcialmente el uso de fertilizantes químicos y pesticidas. Es por ello que el uso de cepas nativas como inoculantes promueve el manejo ecológico y sostenible de los agroecosistemas y a su vez mejorar la producción de cultivos (Pérez et al., 2021).

### **2.4. Cacao amazónico fino de aroma (*Theobroma cacao* L.)**

*Theobroma cacao* L. se originó hace 5300 años en la región del Alto Amazonas entre Perú y Ecuador (Díaz et al., 2020; Zarrillo et al., 2018), es un arbusto entre 2 y 7 metros de altura, presenta hojas alternas, elípticas u oblongas entre 15-50 centímetros de largo aproximadamente y entre 4-15 centímetros de ancho, el tallo crece de forma dimórfica con brotes ortotrópicos, en cuanto al fruto, es una baya grande comúnmente denominada “mazorca”, carnosa, oblonga y tiene entre 15 a 30 cm de largo por 7 a 10 cm de ancho; cada mazorca contiene entre 30 a 40 semillas (Chacón et al., 2011). La variedad criolla o nativa se distingue por presentar frutos de cáscara fina o de mejor calidad, este tipo de cacao posee un cotiledón con olor dulce y un aroma delicado característico (Quintero y Díaz, 2004).

La clasificación taxonómica de *Theobroma cacao* L. según (León, 1968).

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Malvales
Familia	Sterculiaceae
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>Theobroma cacao</i> L.

El cacao en el Perú está distribuido en la selva amazónica y estribaciones de la Cordillera de los Andes, es por ello que al menos diez regiones del Perú cultivan cacao, de los cuales se encuentran: Tumbes, Piura, Amazonas, San Martín, Ucayali, Cajamarca, Huánuco, Junín, Ayacucho y Cusco. Asimismo, el Perú está dentro de los países con mayor diversidad biológica y el cuarto en cuanto a diversidad de especies vegetales, esto hace posible que el cacao tenga un buen aroma y sabor (Oliva y Jorge, 2020).

## 2.5. Importancia económica

En los últimos años la demanda de cacao ha estado por encima de la oferta mundial. Alrededor de un 10% de la producción mundial de cacao, es descrito como fino de aroma. Un 44% de áreas productoras de cacao en el Perú, cosechan la variedad criolla y nativa. Cabe resaltar que el Perú ocupa el 9º lugar en la producción de cacao fino según distintos investigadores y el (Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI], 2015; Oliva y Jorge, 2020).

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo descriptivo, transversal y cuantitativo. Se realizó una caracterización fenotípica y genética de una población de bacterias aisladas en el laboratorio de Investigación en Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez Mendoza.

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial

El estudio se realizó en el Laboratorio de Investigación en Sanidad Vegetal del INDES-CES de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Ubicado en la región de Amazonas, provincia de Chachapoyas.

El estudio tuvo una duración de diez meses en la parte experimental, donde los meses de enero y febrero del 2022 se recolectaron las muestras y los meses de marzo a noviembre 2022 se realizó la caracterización genética y fenotípica, finalmente la redacción del mismo tuvo un periodo de un año.

#### 3.3. Variables

##### Variable independiente

- Aislamientos bacterianos.

##### Variables dependientes

- Identidad taxonómica
- Porcentaje de la actividad antagónica.
- Índice de solubilización de fosfato.
- Eficiencia de solubilización de zinc.
- Eficacia de eliminación de cadmio.

### 3.4. Población y muestra

#### 3.4.1. Población

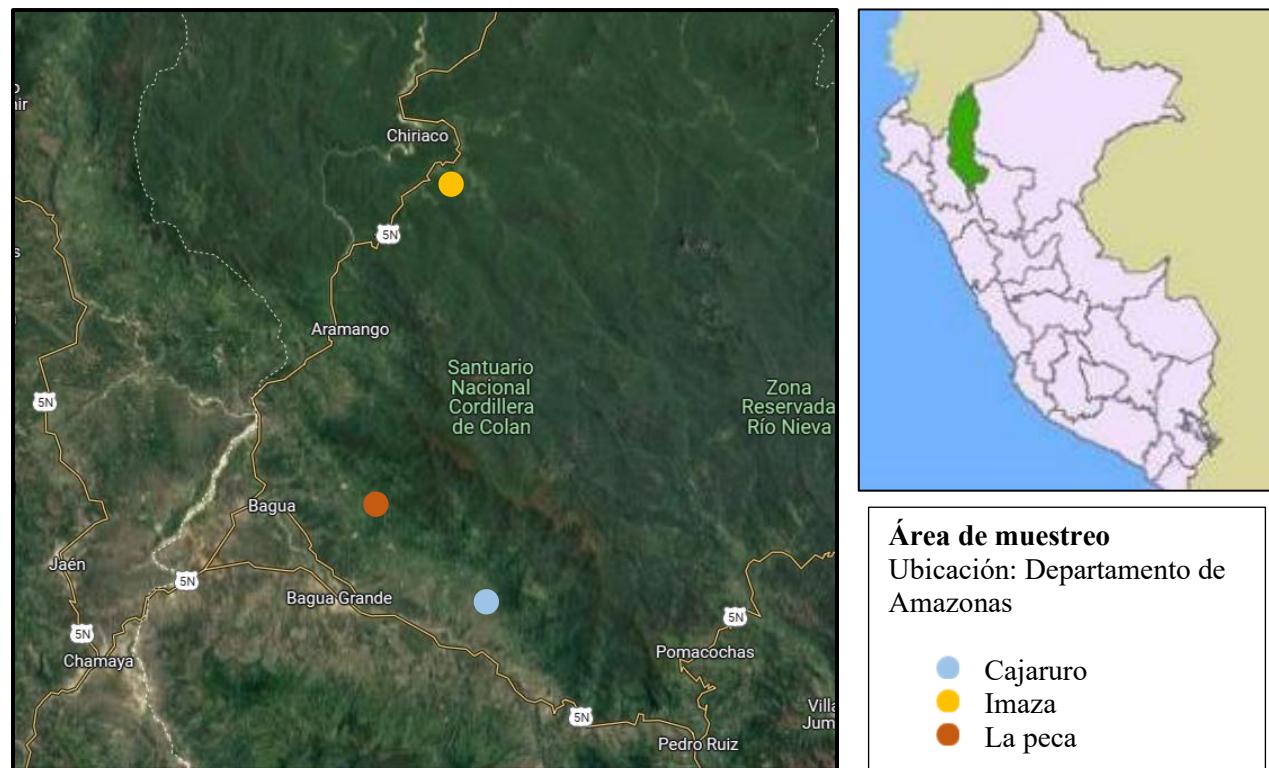
Bacterias asociadas a la rizósfera de cacao nativo amazónico de variedad criolla, obtenidos de los distritos de Cajaruro ( $5^{\circ}43'44.0"S\ 78^{\circ}20'59.1"W$ ), Imaza ( $5^{\circ}10'31.2"S\ 78^{\circ}17'10.6"W$ ) y La peca ( $5^{\circ}37'44.8"S\ 78^{\circ}25'07.6"W$ ) de la región de Amazonas – Perú. Cada distrito con tres plantas en su estado de madurez (**Figura 1**).

#### 3.4.2. Muestra

88 aislamientos de bacterias asociadas a la rizósfera de cacao nativo amazónico de variedad criolla.

**Figura 1**

Mapa del área de estudio y ubicación de las tres zonas de muestreo, Amazonas.



### **3.5. Instrumentos**

#### ***3.5.1. Equipos***

- Incubadora
- Centrífuga
- Termociclador
- Espectrofotómetro
- Cabina de flujo laminar
- Congeladora -20 °C
- Refrigeradora
- Shaker o agitador a temperatura controlada
- Micropipetas de 10 µL, 100 µL y 1000 µL.
- Vortex
- Balanza analítica
- Regla analítica

#### ***3.5.2. Medios de cultivo***

- Potato Dextrosa Agar PDA (Carrera Sánchez et al., 2014).
- Tryptone - Yeast agar (Vincent, 1970).
- Medio de Zinc (Gandhi y Muralidharan, 2016).
- Medio Cromo Azurol Agarizado (Pérez Miranda et al., 2007).
- Medio National Botanical Research Institute's phosphate NBRIP (Sarkar et al., 2012).

#### ***3.5.3. Reactivos***

- EDTA 1 mM
- Tris base 10 mM

- Lysis buffer solution (Promega)
- Protein Precipitation Solution (Promega)
- Rehydration Solution (Promega)
- Green buffer 5X (Promega)
- MgCl<sub>2</sub> 50 mM
- dNTPs 10 mM (Promega)
- Primer BOX A1R 100 μM (Genewiz)
- Taq polymerase (Promega)
- Tampón TBE 1X
- Marcador molecular 1kb (Promega)
- Intercalate Sybr Safe 10 000X (Promega)
- Primers 27F 10 μM
- Primers 1429R 10 μM
- TAE 1X

### **3.6. Procedimiento**

#### **3.6.1. Extracción de ADN**

La extracción de ADN de los 88 aislamientos se realizó mediante el protocolo modificado de lisis por sales (Moore *et al.*, 2004). Para ello a partir de un cultivo bacteriano crecido en medio Triptona Yeast (TY) se tomó una masa bacteriana fresca y se suspendió en 100 mL de solución de lisis (EDTA 1 mM, Tris base 10 mM). La mezcla previamente homogenizada por vortex, se incubó a 100 °C por 25 minutos. El material genético fue recuperado del sobrenadante luego de la centrifugación de las muestras a 14000 rpm por 10 minutos, descartando el pellet y obteniendo el sobrenadante.

**3.6.1.1. Extracción con kit Promega.** Se prepararon tubos con sílica gel en la cual se agregó 600 µL de *lysis buffer solution* (BI), posteriormente se agregó una porción de masa bacteriana fresca y se agitaron en vortex por 15 minutos. Se incubó en baño maría a 65 °C por 15 minutos y se centrifugaron a 15000 rpm por 3 minutos. Se extrajo 600 µL a tubos de 1.5 mL y se agregó 200 µL de *protein precipitation solution* y se centrifugo a 15000 rpm por 3 minutos.

En otro tubo eppendorf se agregó 600 µL de isopropanol al 100% y 600 µL del anterior y centrifugamos a 15000 rpm por 3 minutos y se eliminó el sobrenadante. Al pellet se agregó 600 µL de alcohol al 70% y se centrifugó a 15000 rpm por 3 minutos. De igual manera se eliminó el sobrenadante y se dejó secar a temperatura ambiente y finalmente se agregó 100 µL de *rehydration solution* para su posterior cuantificación.

### **3.6.2. Cuantificación del material genómico**

El material genómico fue cuantificado mediante espectrometría usando el analizador *Biospectrometer Basic* marca eppendorf. Para ello 1 µL de la muestra de DNA fue transferido a un adaptador especializado propio del equipo. Se tomaron como variables la concentración, así como los índices de pureza (260/280 y 260/230). Las muestras concentradas fueron diluidas a 50 ng/µL con agua pura a grado molecular en un volumen final de 100 µL.

### **3.6.3. Caracterización genética y molecular**

Los aislamientos fueron identificados mediante la amplificación del gen ribosomal ARNr 16S utilizando los cebadores universales 27F (5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3'), según el protocolo modificado de (Dos santos et al., 2019). Los parámetros de la mezcla de reacción se componen de 2.5 µL de agua ultrapura (Sigma), 6.25 µL de Green Máster Mix 2X (Promega), 0.625 µL del primers 27F 10 µM, 0.625 µL del primers 1429R 10 µM y 2.5 µL de DNA diluido. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

se realizó en el *T100™ Thermal Cycler* de la marca Biorad, usando las siguientes condiciones: 4 minutos a 96 °C, seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 57 °C y 1 minuto a 72 °C y un espacio final de extensión a 72 °C durante 10 minutos.

La visualización de las muestras fue realizada en un gel de agarosa al 0.8 % en tampón TAE 1X y el marcador molecular empleado fue de 1kb (Promega). La corrida electroforética se realizó a un voltaje de 100 V por 25 minutos. La tinción del gel se realizó utilizando el agente *intercalante Sybersafe* (Promega, 10 000X) a una concentración de 0.27X. Finalmente, las muestras amplificadas fueron enviadas al servicio de secuenciación de la empresa – MACROGEN (Seúl, Corea del Sur).

### **3.6.4. Caracterización fenotípica de actividades PGPR**

**3.6.4.1. Medios de cultivo.** Las cepas fueron cultivadas constantemente en el medio de cultivo Triptona Yeast (TY), ya sea de forma sólida o líquida (150 rpm) a 28 °C. Para los ensayos de tolerancia a cadmio (Cd) se utilizó la versión modificada, en la cual está suplementada con una solución de CdCl<sub>2</sub> a 1000 ppm.

Triptona                        5g/L

Extracto de levadura            3g/L

CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O                    0.5g/L

Agar                              15 g/L

La capacidad solubilizadora de fosfato se evaluó usando en medio de cultivo agarizado *National Botanical Research Institute's phosphate* (NBRI) a 28 °C.

MgCl<sub>2</sub>6H<sub>2</sub>O                    5g/L

MgSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O                    0.25g/L

KCl                                0.2g/L

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.1g/L
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	5g/L
Glucosa	10g/L
Agar	15 g/L

Para la capacidad solubilizadora de zinc se evaluó utilizando el medio agarizado Tris – minimal médium a 28 °C.

Glucosa	10g/L
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1g/L
KCl	0.2g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1g/L
MgSO <sub>4</sub>	0.2g/L
ZnO	1.244g/L

La prueba para la detección de sideróforos se realizó utilizando el medio Cromo Azurol Agarizado. La preparación de este medio consiste en la mezcla de varias soluciones, en diferentes proporciones. Para cada 100 mL de Medio CAS – sólido: Solución 1 (80 mL), Solución 2 (10 mL), Solución 3 (10 mL), Solución 4 (1 mL), Solución 5 (0,5 mL), Solución 6 (0.1 mL) y Solución 7 (0.1 mL).

Buffer PIPES	11.44g	
NaOH **llevar a pH 6.8	1.53g	
Tripteína	0.06g	
Triptofano 1%1.12 mL		
Agar	5.6g	

Solución 1: PIPES agarizado 300 mL

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.15g		Solución 2: MM9 10X 50 mL
$\text{NaCl}$	0.25g		
$\text{NH}_4\text{Cl}$	0.50g		
Cromo Azul S	60.5mg/50 mL		Solución 3: CAS HDMT 100mL
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0016g/10 mL (HCl 10 mM)		
Cetrimida	72.9mg/40 mL		
Glucosa 1M	20 mL		Solución 4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1M	1 mL		Solución 5
$\text{CaCl}_2$ 50Mm	5 mL		Solución 6
Vitaminas 1000X	20 mg/100 mL		Solución 7

**3.6.4.2. Solubilización de fosfato.** La capacidad para solubilizar fosfato inorgánico se evaluó a partir de cultivos bacterianos frescos de los aislamientos obtenidos de la rizósfera, previamente crecidos en medio de cultivo TY con una densidad óptica (600nm = 0.5). Dichos cultivos fueron centrifugados a 12000 rpm por 4 min y posteriormente sometidos a varios lavados con agua destilada estéril. Finalmente, los pellets lavados fueron resuspendidos en 100  $\mu\text{L}$  de agua destilada estéril de los cuales, 10  $\mu\text{L}$  de los cultivos se inocularon en placas con medio selectivo NBRIP. La capacidad solubilizadora de fosfato se observó con la formación de un halo translúcido y fue cuantificada mediante el cálculo del índice de solubilización de fosfato (ISF) descrito por (Sarkar et al., 2012). El cual consiste:

$$\text{ISF} = A/B$$

*A:* Diámetro de la colonia sumado con la zona translúcida alrededor de ella.

*B:* Diámetro de la colonia.

**3.6.4.3. Solubilización de zinc.** La capacidad para solubilizar zinc se evaluó a partir de cultivo bacteriano fresco, previamente crecido en 3 mL de caldo TY a 150 rpm por 24h, 1.5 mL de caldo TY fue transferido a las cubetas del espectrofotómetro para medir la densidad óptica, con la finalidad de obtener las concentraciones adecuadas. Las muestras que estuvieron por encima de 0.5 fueron diluidas con MgCl<sub>2</sub> 10 mM. Los cultivos bacterianos fueron normalizados a una DO (600nm = 0.5) y el pellet con una solución de MgCl<sub>2</sub> a 10 mM.

Se inoculó un volumen de 10 µL de muestra en placas servidas con medio *Tris – minimal médium* y se incubaron a 28 °C por 72 horas.

En función de la aparición del halo de solubilización se calculó la eficiencia de solubilización de zinc descrito por (Gandhi y Muralidharan, 2016), de la siguiente manera:

$$SE = \frac{\text{Diameter of solubilization halo zone (mL)}}{\text{Diameter of colony (mL)}} \times 100$$

**3.6.4.4. Producción de sideróforos.** Para evaluar la capacidad de producción de sideróforos, las bacterias fueron cultivadas en caldo TY a 28 °C por 24 horas. A partir de dichos cultivos se inocularon 10 µL en placas de medio TY y se incubaron a 28 °C por 24 horas hasta su crecimiento. Luego de la incubación, se añadió una capa del medio Cromo Azurol Agarizado (CAS) (Pérez Miranda et al., 2007). La capacidad de producción de sideróforos se determinó mediante la formación de un halo de color naranja-amarillo alrededor del cultivo bacteriano, para determinar la actividad positiva se midió en área del halo (mm<sup>2</sup>).

**3.6.4.5. Ensayo de antagonismo con el fitopatógeno *Moniliophthora roreri*.** La prueba de antibiosis se realizó por enfrentamiento directo con el hongo patógeno *Moniliophthora roreri* en placas con medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA).

A partir de un cultivo bacteriano fresco, previamente crecido en 3mL de caldo TY a 150 rpm por 24h y a una temperatura de 28 °C.

Se inoculo 100 µL en placas con medio de cultivo PDA, que luego fue extendido con la ayuda del asa de drigalsky. Seguidamente se colocó un disco de 7 mm del hongo en la parte central de la placa. Asimismo, se tuvo controles del hongo y bacteria para su posterior medición. Los enfrentamientos se incubaron a 28 °C por 15 días y se realizaron mediciones en el séptimo y quinceavo día de enfrentamiento.

El índice antifúngico se calculó de la siguiente manera (San Blas *et al.*, 2012):

$$IA\% = \left[ 1 - \frac{(Da - 0.7)}{(Db - 0.7)} \right] \times 100$$

*Da*: diámetro de crecimiento en placa.

*Db*: diámetro en placa control.

**3.6.4.6. Ensayo de tolerancia a cadmio.** Las 88 cepas fueron evaluadas, según su capacidad de tolerar diferentes concentraciones de toxicidad por cadmio. Para ello se utilizó el medio de cultivo TY modificado a diferentes concentraciones de Cadmio: 0, 100 y 200 ppm de CdCl<sub>2</sub>, en el que se empleó el método de “replica plating” (Lederberg y Lederberg, 1951) y las placas fueron incubadas a 28 °C por 72 horas.

Aquellos aislamientos que presentaron un crecimiento visible tanto en el control como en la condición fueron seleccionados y sembrados nuevamente utilizando el método “drop plate” (Miles et al., 1938), utilizando las mismas condiciones descritas anteriormente, con la finalidad de

corroborar la tolerancia. Las cepas que presentaron tolerancia fueron ensayadas según su capacidad de eliminar cadmio de medio de cultivo. Para ello se realizó un ensayo de eliminación de cadmio (Pandey y Bhatt, 2015). La cual consistió en cultivar las cepas en medio TY líquido suplementado con: 0, 100 y 200 ppm de CdCl<sub>2</sub> durante 24h a 28°C, posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 12 000 rpm por 6 minutos obteniendo así el sobrenadante, que seguidamente fue filtrado a través de un filtro estéril de 0,22 µm y diluidas con agua ultrapura, para la determinación del cadmio mediante fotometría de emisión atómica (*Agilent Technologies 4100 MP-AES*), este procedimiento fue realizado por el servicio del laboratorio de investigación de suelos y agua (UNTRM, Perú). La eficiencia de eliminación de cadmio (RE) se calculó de la siguiente manera (Pandey y Bhatt, 2015):

$$\text{RE\%} = \left[ \left( \frac{C_o - C_f}{C_o} \right) \times 100 \right]$$

*C<sub>o</sub>*: Concentración inicial de cadmio en el medio.

*C<sub>f</sub>*: Concentración final de cadmio en el medio.

### 3.7. Análisis de datos

#### 3.7.1. Herramientas bioinformáticas

La alineación de las secuencias tipo se realizó utilizando el paquete *MAFFT v7.490*, las cuales fueron obtenidas del *National Center for Biotechnology Information – NCBI* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), Genbank Database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y The ribosomal database project (RDA) (<http://rdp.cme.msu.edu/>). El árbol filogenético se construyó con el paquete IQ –TREE (Nguyen et al., 2015), la filogenia se construyó utilizando el método de máxima probabilidad y la robustez de este se evaluó mediante el método Bootstrap (1000 réplicas). Para comprender mejor y facilitar la visualización de la diversidad entre géneros, se utilizó la herramienta *Interactive Tree Of Life – iTOL* (<https://itol.embl.de/>) para mostrar el agrupamiento

de cada aislamiento en el árbol filogenético (Letunic y Bork, 2021). Las secuencias de ARNr 16S se depositaron en la base de datos del GenBank, obteniendo así los números de acceso.

### **3.7.2. Herramientas estadísticas**

Los ensayos de remoción de cadmio, solubilización de fosfato y zinc se analizaron mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) unifactorial, seguida de una prueba de comparación múltiple de Tukey, utilizando el software estadístico de uso libre *Infostat* (Di Rienzo et al., 2008), para el caso del ensayo de producción de sideroforos, cuando se detectó una desviación en la normalidad, se realizó una transformación de datos (*Normal Score*) realizándose así una prueba no paramétrica Kruskall-Wallis para mejorar estos. Así mismo, para una mejor visualización de las gráficas se utilizó el software GraphPad v.8.0.1.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Identificación taxonómica

Para estimar la identificación taxonómica de las 88 cepas se amplificaron y analizaron las secuencias del ARNr 16S, tomando como referencia las secuencias provenientes de la base de datos NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Se observó que la comunidad bacteriana estaba compuesta por 23 géneros pertenecientes a las familias Bacillaceae (*Fictibacillus*, *Neobacillus*, *Alkalihalobacillus*, *Paenibacillus*, *Peribacillus*, *Mesobacillus* y *Bacillus* ), Pseudomonaceae (*Pseudomonas*), Rhizobiaceae (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Agrobacterium*), Microoccaceae (*Arthrobacter* y *Paenarthrobacter*), Enterobacteriaceae (*Enterobacter*), Burkholderiaceae (*Cupriavidus*, *Burholderia* y *Paraburkholderia*), Lysobacteraceae (*Lysobacter*), Microbacteriaceae (*Agromyces*), Sphingomonadaceae (*Sphingobium*) y Caryophanaceae (*Sporosarcina*). A partir de las 944 secuencias se obtuvieron 23 clados diferenciales (**Figura 2**), así mismo se observó nodos no polifiléticos a excepción de los nodos contenidos por los géneros *Peribacillus*, *Neobacillus* y *Agromyces* que contenían algunas cepas de *Bacillus*.

Según el árbol filogenético 30 de los aislamientos pertenecen al género *Bacillus* (CA210, IA308, IA102, IA204, IB304, PA104, PB107, PB302, PA103, IB201, IB301, IA205, IA203, PB104, IB204, IB203, IB206, PA201, PB203, PA305, PA302, PA303, PA1021, IA110, IA202, PB103, IB305, PB105, PA204 y PA203). Por otro lado, las cepas CA202, IA101, CA104 y CA201 fueron agrupadas dentro del género *Fictibacillus* y las cepas IB303, PB201 y PB101 se relacionaron con el género *Peribacillus*.

Las cepas CB301, CB106, CB302, CB205, IB202, PA304, PA301 y CA103 se ubicaron en el clado del género *Neobacillus*. Así mismo un total de 12 cepas se clasificaron dentro del

género *Pseudomonas* tales como: CA102, CB305, PA105, IB104, IA306, PB305, PB303, PB204, PB304, PA205, PB301 y PB202. Del mismo modo 9 cepas bacterianas fueron agrupadas con el género *Rhizobium* CA304, CA301, CA302, CB101, CB102, CB105, CB103, PB206 y CA203.

Dentro del género *Cupriavidus* se encontraron las cepas CB201, IA302 y IB302, mientras que las cepas IB102, IB105, IB106 y IB103 se clasificaron dentro del género *Burkholderia*. Las cepas PA102 y PA202 se encontraron estrechamente relacionados con el género *Enterobacter*, mientras que las cepas IA304 e IA307 se encontraron en el género *Arthrobacter*. Por otro lado, las CB202, CB203, CB204 y CB303 se relacionaron con *Agromyces*.

Finalmente, la cepa IA201 se ubicó en el género *Sphingobium*, CB304 se encontró con *Lysobacter*, CA205 se agrupó con el género *Paenarthrobacter*, CA101 con *Isoptericola*, CA105 se encontró agrupada con varias cepas de *Cellulosimicrobium* y CA305 se encontró estrechamente relacionado con *Sporosarcina*.

Respecto a la distribución de las comunidades bacterianas, esta varió de acuerdo al área de muestreo, asimismo se observó una fuerte dominancia del género *Bacillus*, particularmente en los distritos de Imaza y La peca, en cuanto al distrito de Cajaruro se presentó una fuerte dominancia de los géneros *Agrobacterium* y *Neobacillus* (**Figura 3**). Las tres áreas de muestreo presentaron tres géneros en común tales como *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Neobacillus*, por el contrario, también se observó la presencia de los géneros únicos por distrito, tales como *Agromyces*, *Agrobacterium*, *Cellulosimicrobium*, *Lysobacter*, *Paenarthrobacter* y *Isoptericola* para Cajaruro; *Sphingobium*, *Burkholderia* y *Arthrobacter* en Imaza y *Enterobacter* en La Peca.

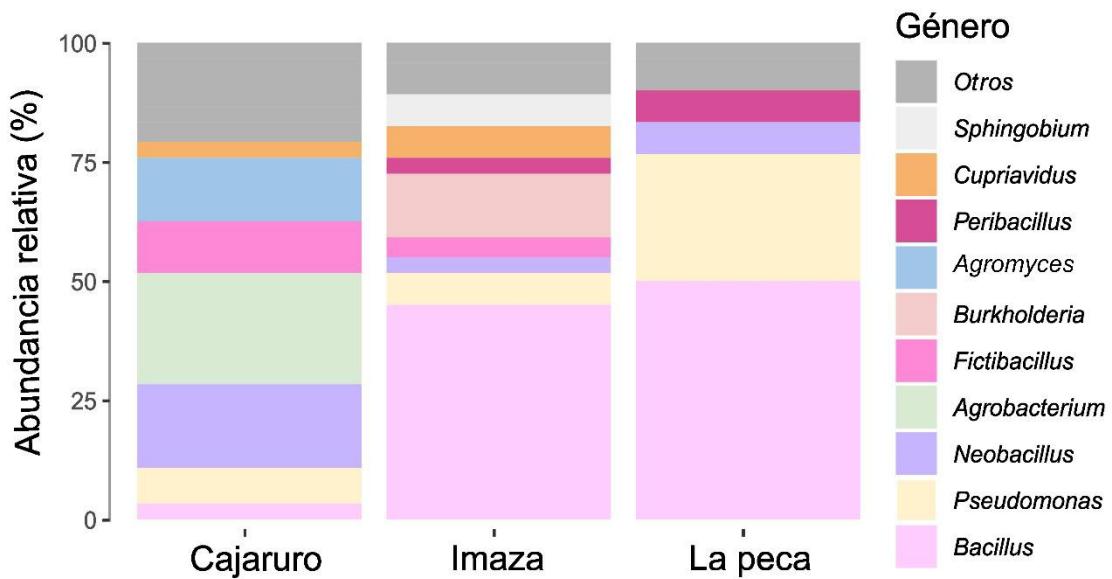
**Figura 2.**

Árbol filogenético de máxima verosimilitud, que muestra la posición filogenética de las bacterias asociadas a la rizósfera de *Theobroma cacao*. Se alinearon un total de 944 secuencias utilizando el paquete MAFFT v7. 490. El modelo filogenético se construyó utilizando el paquete IQ-TREE utilizando la función ModelFinder Plus y para observar mejor la diversidad, se utilizó el programa Interactive tree Of Life. Las posiciones de las cepas aisladas se muestran en negrita y un fondo blanco. Las secuencias de referencia se aprecian en una escala de colores. Los números de acceso del GenBank de las secuencias de referencia se aprecian entre paréntesis. (Anexo A).



**Figura 3.**

Abundancia relativa de bacterias asociadas a la rizósfera de *Theobroma cacao*. donde se visualizan por colores los diez primeros géneros más abundantes por distrito. Así mismo, se observa los géneros menos abundantes dentro de otros.



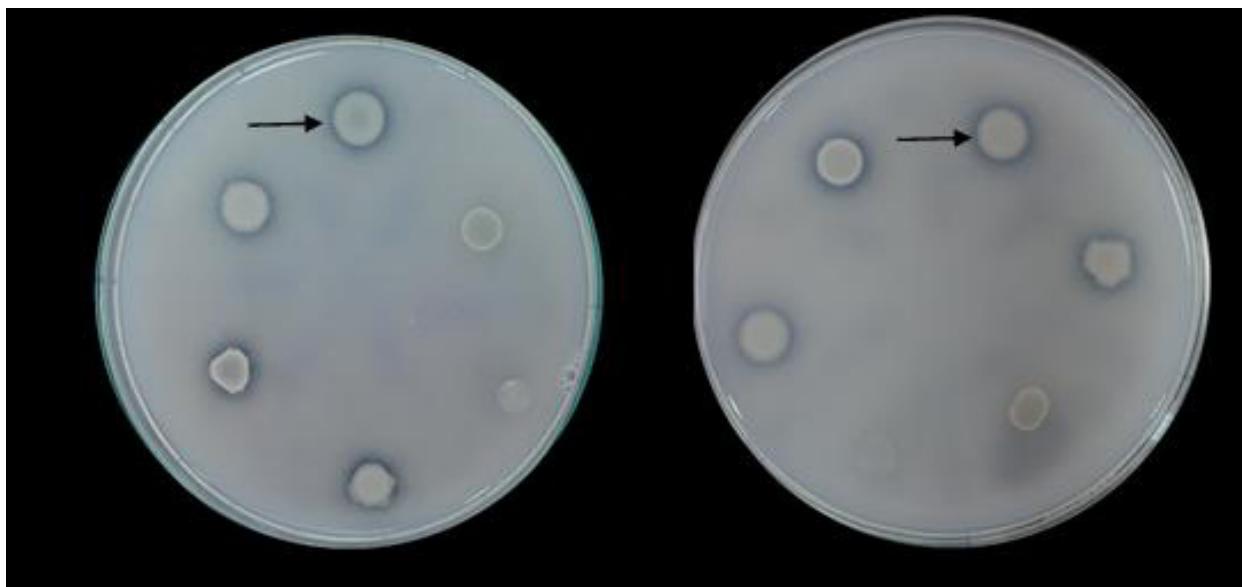
## 4.2. Propiedades relacionadas a la promoción del crecimiento vegetal (PGPR)

### 4.2.1. Capacidad solubilizadora de fosfato

La capacidad solubilizadora de fosfato fue determinada por la formación de un halo translúcido alrededor de la colonia, producto de la solubilización del fosfato inorgánico insoluble  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , que contiene el medio NBRIP (**Figura 4**).

**Figura 4.**

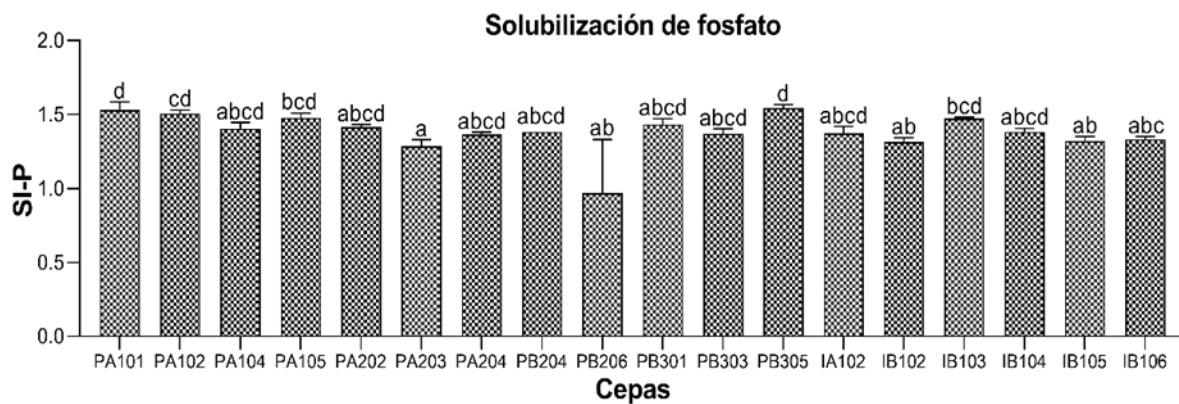
Imagen referencial del ensayo de solubilización de fosfato en medio selectivo NBRIP, las flechas indican la formación del halo de solubilización.



Del total de aislamientos, 18 (20,45%) presentaron un halo translúcido, es decir mostraron actividad solubilizadora, mientras que 77 (79,45%) no expresaron esa característica. Las bacterias identificadas como solubilizadoras pertenecieron a los géneros *Pseudomonas* (6), *Bacillus* (5), *Burkholderia* (4), *Enterobacter* (2) y *Sinorhizobium* (1), obteniéndose así índices de solubilización superiores a 1,24. Las cepas PA101 (*Bacillus*) y PB305 (*Pseudomonas*) presentaron un índice de solubilización de fosfato significativo más alto ( $1,53 \pm 0,03$  y  $1,53 \pm 0,03$ ) respectivamente (Figura 5).

**Figura 5.**

Las barras representan la media de tres réplicas biológicas  $\pm$  SE (error estándar), los datos fueron analizados en el programa infoStat, donde se realizó un ANOVA seguido del test de comparación multiple Tukey, donde las letras muestran diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la cantidad de fosfato solubilizado.

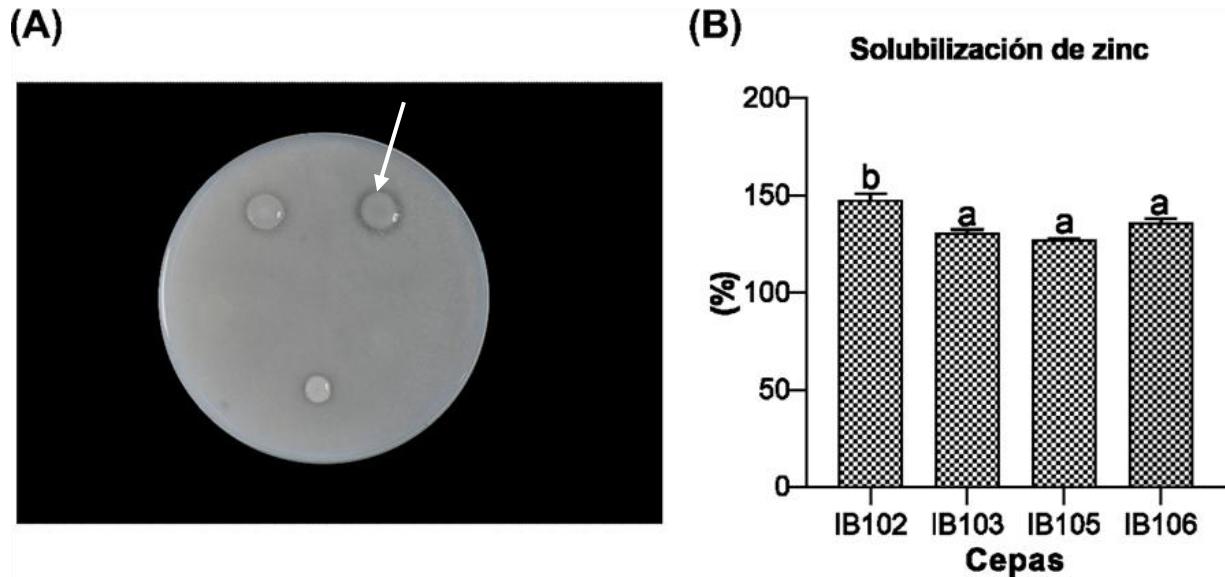


#### 4.2.2. Caracterización de bacterias solubilizadoras de zinc

La capacidad solubilizadora de zinc se observó por la formación de un halo translúcido alrededor de la colonia tal como se muestra en la **Figura 6A**. Este ensayo reveló que, de los 88 aislamientos, 4 (4.54 %) expresaron ese fenotipo, obteniendo una eficiencia de solubilización de entre 126.7 - 153,19%. Estas cepas pertenecen al género *Burkholderia* (IB103, IB102, IB105 y IB106). Así mismo, las cepas no mostraron diferencias significativas (**Figura 6B**).

**Figura 6.**

Ensayo de solubilización de zinc en medio Tris – minimal médium. (A) bacterias solubilizadoras de Zinc, la fecha indica el halo de solubilización. (B) las barras representan la media de tres replicas biológicas ± SE, no mostrando diferencias significativas.

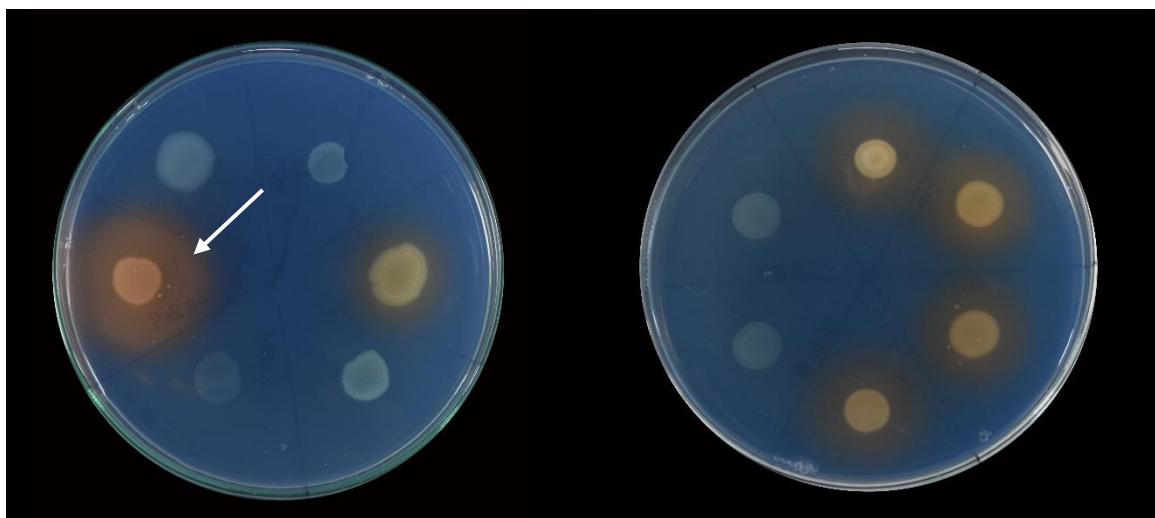


#### 4.2.3. Caracterización de bacterias productoras de sideróforos

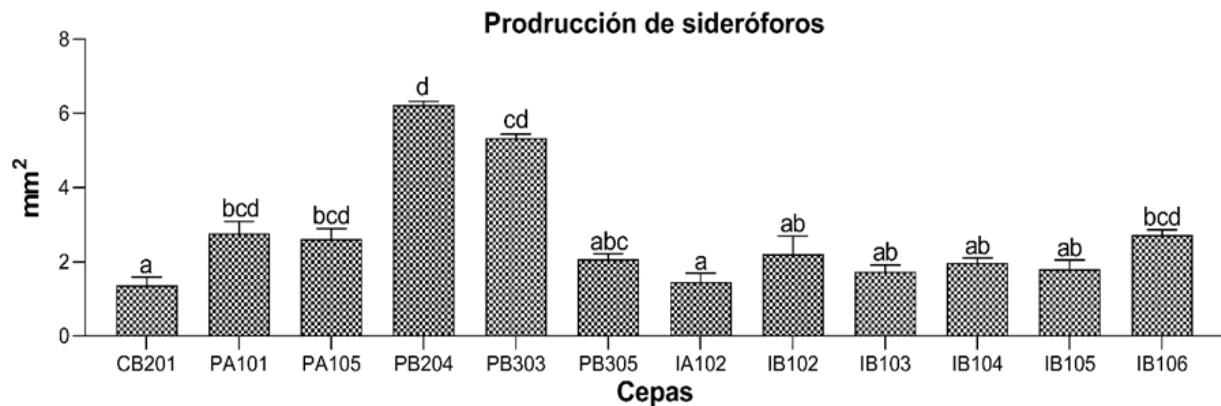
La producción de sideróforos fue evaluada en base al área del halo formado alrededor de la colonia (**Figura 7**). Este análisis reveló que 12 (13.63%) expresaron esa propiedad con áreas de entre 1.37 a 6.23 mm<sup>2</sup>, mientras que el 76 (86.37%) no expresaron esa característica. Las bacterias productoras de sideróforos hallados, pertenecen a los géneros *Pseudomonas* (5), *Burkholderia* (4), *Bacillus* (2) y *Cupriavidus*. La cepa PB204 (*Pseudomonas*) presentó mayor producción de sideróforos ( $6.23 \pm 0.21$ ) seguida de PB303 también perteneciente al género *Pseudomonas* ( $5.34 \pm 0.21$ ), tal como se observa en la (**Figura 8**). Los valores obtenidos en este atributo no presentaron una normalidad  $p > 0.05$ , puesto que se realizó una transformación de datos con NSC (Normal Score) obteniendo un  $p$  - valor igual a 0,85.

**Figura 7.**

Ensayo de producción de sideróforos el medio Cromo Azul Agarizado, la flecha señala el halo naranja-amarillo alrededor de la colonia.

**Figura 8.**

Producción de sideróforos. Las barras representan la media de tres replicas biológicas  $\pm$  SE (error estándar). Los valores obtenidos en este atributo no presentaron una normalidad  $p > 0,05$ , puesto que se realizó una transformación de datos (Normal Score).



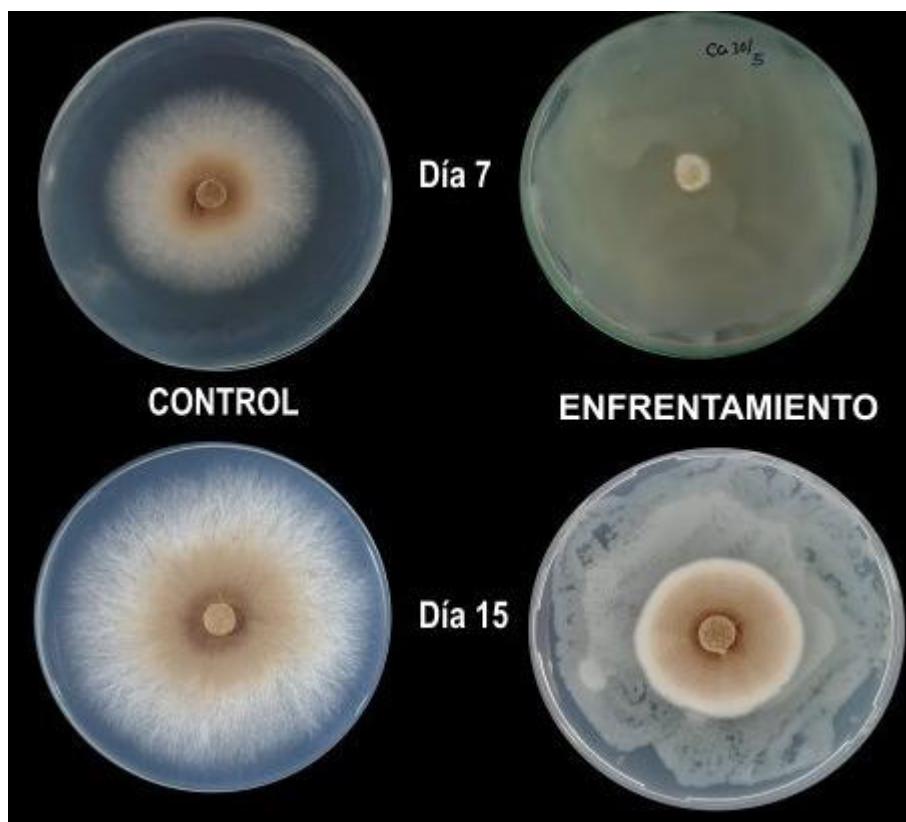
#### 4.2.4. *Ensayo de capacidad antagónica contra Moniliophthora roreri*

La prueba se realizó de manera *in vitro* frente al patógeno *Moniliophthora roreri*, tal como se muestra en la **Figura 9**. El índice antifúngico (IA) se calculó de la siguiente manera:  $\text{IA}\% = (1 -$

$(Da - 0.7) / (Db - 0.7) \times 100$ , se midió al séptimo y quinceavo día, en el cual los resultados se clasifican de la siguiente manera: menos del 25% (<25), entre el 25 y 50% (25 - 50), entre el 50 y 75% (50 - 75) y más del 75% (>75).

**Figura 9.**

*Fotografía referencial del ensayo de antagonismo frente al hongo fitopatógeno *Moniliophthora roreri*, en medio de cultivo PDA a 7 y 15 días de enfrentamiento, del lado izquierdo se observa como tratamiento control al fitopatógeno mientras que del lado derecho se observa a *M. roreri* enfrentado con una cepa bacteriana.*

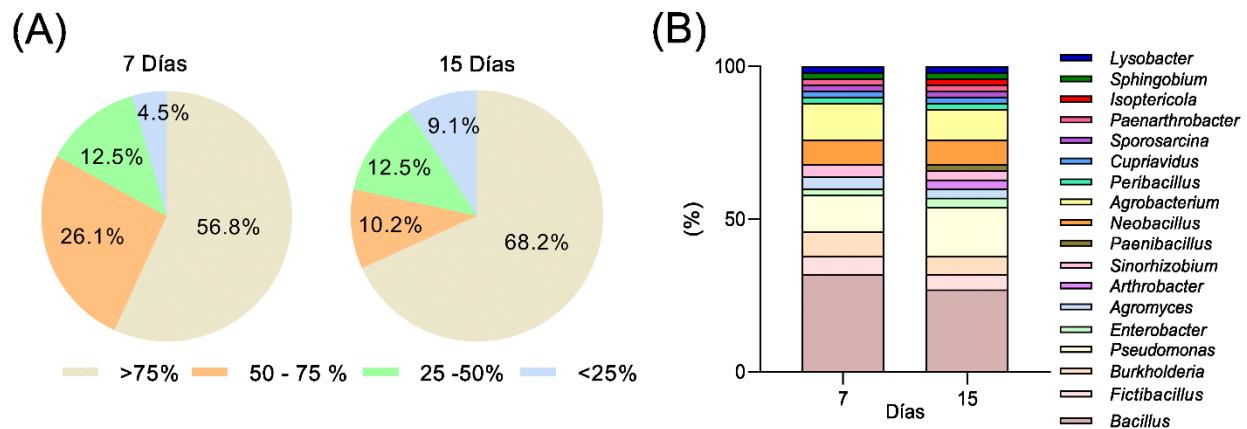


Al séptimo día el 56,8% de los aislamientos presentaron un IA superior al 75%, el 26,1% de los aislamientos presentaron un IA de entre 50 – 75%, el 12,5% de la población presentaron un IA entre 25 – 50% y el 4,5% de los aislamientos presentaron un índice anti fúngico menores al 25%. A los quince días después del enfrentamiento los aislamientos con un IA superiores al 75%

incrementaron hasta un 68,2%. Por el contrario, los aislamientos con un IA de entre 50 – 75% disminuyeron hasta un 10,2%, los aislamientos con un IA de entre 25 - 50% se mantuvieron en 12,5% y finalmente los aislamientos con un IA menores a 25% incrementaron hasta un 9.1% (**Figura 10A**). Los aislamientos que evidenciaron capacidad antagonista frente a *M. roreri* pertenecen a los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Neobacillus*, *Peribacillus*, *Agrobacterium*, *Agromyces*, *Sinorhizobium*, *Fictibacillus*, *Paenarthrobacter*, *Cupriavidus*, *Lysobacter*, *Enterobacter*, *Sphingobium* y *Sporarcina* (**Figura 10B**).

**Figura 10.**

(A) diagrama de torta a los 7 y 15 días de enfrentamiento, donde se muestra el porcentaje de aislamientos en relación al índice de antagonismo. (B) diagrama de barras donde se aprecia los géneros más abundantes a los 7 y 15 días de enfrentamiento.

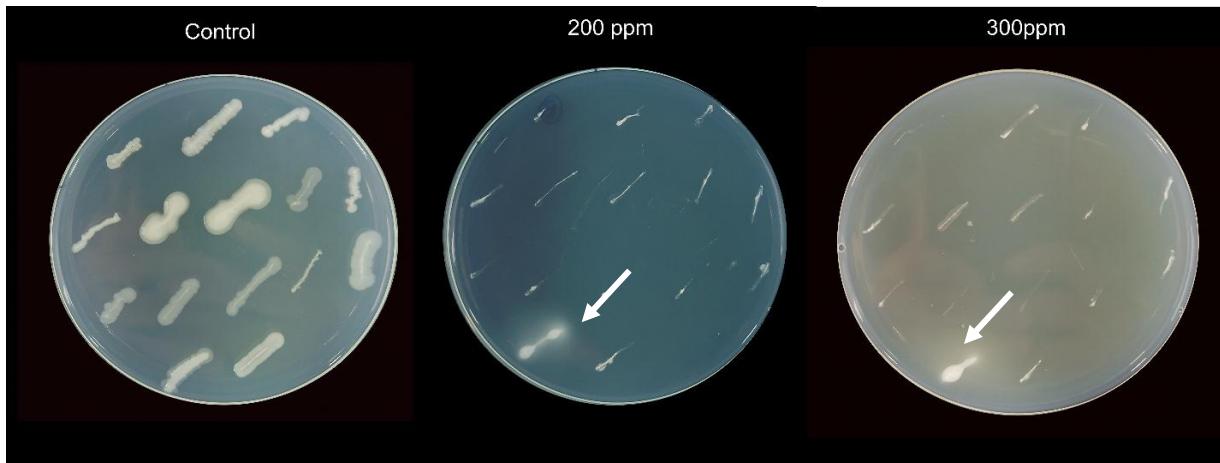


#### 4.2.5. Capacidad de remoción de cadmio

Siguiendo con el objetivo se evaluó la tolerancia a cadmio mediante el crecimiento bacteriano, utilizando el medio TY modificado con diferentes concentraciones de CdCl<sub>2</sub> (0, 100 y 200 ppm), en primera instancia los 88 aislamientos fueron sembrados utilizando la técnica “replica plating”, tal como se muestra en la (**Figura 11**), obteniendo así 18 (20.45%) cepas tolerantes a 100 y 200 ppm de CdCl<sub>2</sub>.

**Figura 11.**

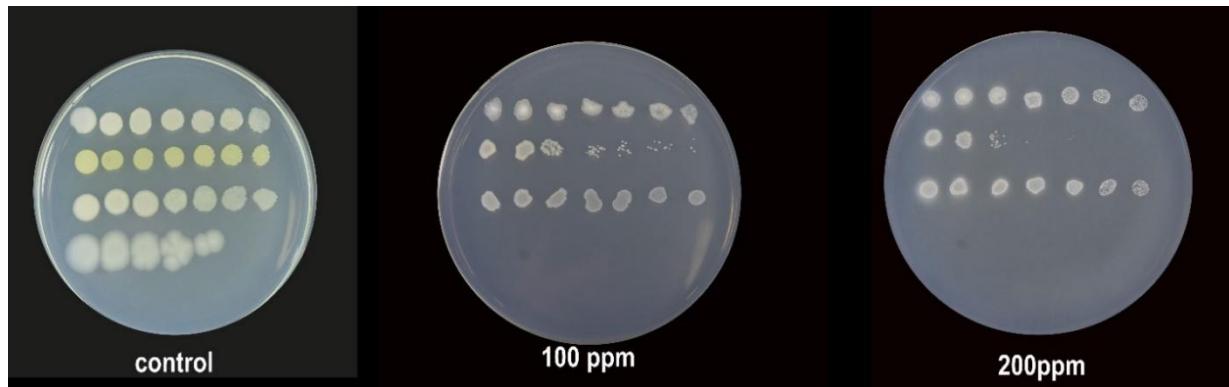
Imágenes referenciales de la prueba de tolerancia a cadmio. El ensayo se realizó mediante la técnica de “replica plating” utilizando el medio TY(Control) y TY modificado (100 y 200 ppm), la flecha indica el crecimiento de las cepas.



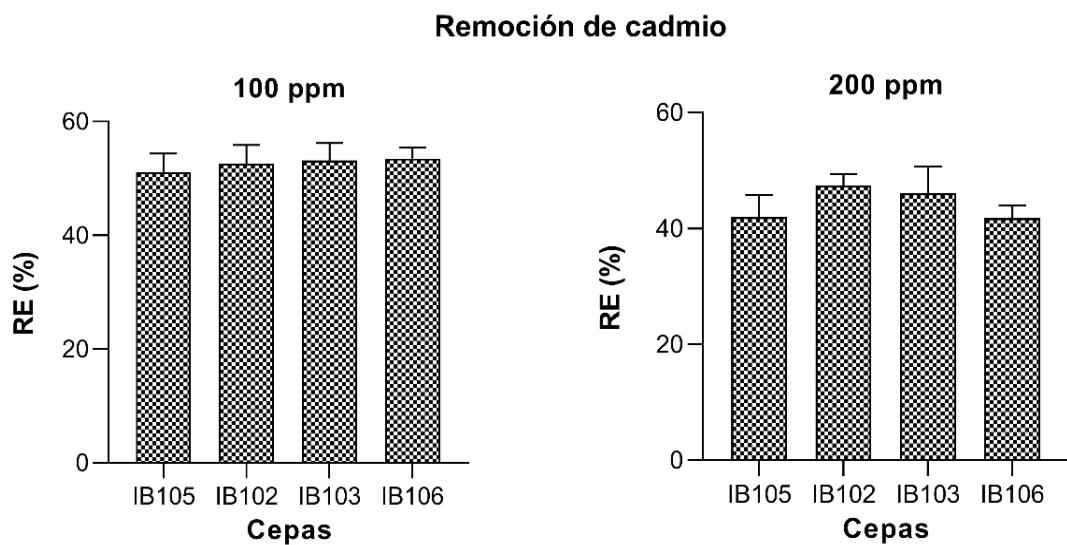
Posteriormente se realizó una segunda evaluación a las cepas tolerantes, utilizando la técnica de dilución en gota “Drop plate” (**Figura 12**), bajo condiciones de estrés (RE - 100 y RE - 200 ppm), en cuatro aislamientos se observó el fenotipo de tolerancia, con una eliminación de CdCl<sub>2</sub> de entre 35.28 – 54.9%, particularmente en las cepas *Burkholderia* IB103, IB102, 1B105 y IB106. Cabe resaltar que no se observó diferencias significativas entre ellas (**Figura 13**).

**Figura 12.**

Técnica de “Drop plate” en cepas tolerantes utilizando el medio TY(Control) y TY modificado (100 y 200 ppm). El orden de las diluciones se muestra de derecha a izquierda desde la dilución -1 hasta una dilución de -6.

**Figura 13.**

Eficiencia de eliminación de cadmio. Las barras representan la media de tres réplicas  $\pm$  la desviación estándar (SE).



## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La identificación filogenética de las 88 cepas se realizó con la finalidad de caracterizar sus potenciales PGPR. Los resultados obtenidos, evidenciaron un claro predominio de la familia Bacillaceae conformado por los géneros: *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Fictibacillus*, *Peribacillus* y *Neobacillus*, esto concuerda con investigaciones anteriores donde identificaron la asociación de *Bacillus* en la rizósfera de *Theobroma cacao*, (Arce et al., 2022; Feria et al., 2022; Koua et al., 2020; Leite et al., 2013). Según estos autores la presencia de diversas cepas de *Bacillus* presentan una mayor tolerancia a agentes abióticos y estrés biótico, generando así un mayor peso seco y peso fresco de cacao (Arce et al., 2022; Leite et al., 2013). En costa de Marfil se realizó un estudio similar donde evaluaron las características PGPR mediante pruebas *in vitro*, donde las cincuenta cepas de *Bacillus* aisladas tuvieron un papel como promotoras de crecimiento vegetal, del mismo modo algunas cepas presentaron propiedades antibacterianas, antifúngicas y mostraron un alto potencial en la producción de AIA y solubilización de fosfato (Koua et al., 2020), del mismo modo se reportaron presencia de los géneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Cupriavidus* y *Enterobacter* habitando la rizósfera de *Theobroma cacao*, presentando resultados favorables para el control de enfermedades y como biorremediadores de suelos contaminados (Acebo et al., 2015; Arce et al., 2022; Cordoba et al., 2021; Feria et al., 2022; Thomas et al., 2011). Por otro lado, los géneros *Agrobacterium*, *Sinorhizobium*, *Sphingobium*, *Isoptericola*, *Cellulosimicrobium*, *Sporosarcina*, *Paenarthrobacter*, *Arthrobacter* y *Lysobacter* no se encontraron en la rizósfera de *Theobroma cacao*, sin embargo, fueron encontrados en otras plantas hospederas (Boss et al., 2022; Giannelli et al., 2022; Kaur et al., 2014; Nabti et al., 2014; Verma et al., 2016; Zhang et al., 2019). Cabe mencionar que estos géneros tienen un potencial para el manejo de enfermedades y control de metales pesados (Gallegos et al., 2024; Wibowo et al., 2020; Wyszkowska et al., 2022).

La capacidad inhibidora frente a *M. roreri*, fue uno de los rasgos más dominantes de los aislamientos. Este patógeno es el agente causal de la pudrición de la vaina de cacao y considerada como una de las enfermedades más destructivas (Evans, 2016). Más de la mitad de los aislamientos presentaron valores de índice de antagonismo superiores al 75% en ambos tiempos de evaluación, estas bacterias fueron miembros del género *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Neobacillus*, *Peribacillus*, *Agrobacterium*, *Agromyces*, *Sinorhizobium*, *Fictibacillus*, *Paenarthrobacter*, *Cupriavidus*, *Lysobacter*, *Enterobacter*, *Sphingobium* y *Sporosarcina*, con un fuerte dominio del género *Bacillus* seguido de cepas *Enterobacter* y *Agrobacterium*, en apoyo a los resultados obtenidos, informes anteriores demostraron efectos similares de cepas de *Bacillus* frente a *M. roreri* y *M. perniciosa*, generando una inhibición en el crecimiento micelar de estos hongos, así mismo los *Bacillus* son capaces de producir compuestos orgánicos volátiles que actúan sobre el micelio y la germinación de las esporas generando un menor crecimiento de *M. roreri* (De la Cruz et al., 2022; Serrano et al., 2021; Vera et al., 2020). En cuanto a los géneros restantes, no se encontraron reportes de su actividad antagónica frente a *M. roreri*. Sin embargo, si presentaron actividad microbiana frente a otros patógenos, tales como: *M. perniciosa*, *Phytophthora* sp, *Fusarium* sp *Rhizopus microsporus*, *Aspergillus flavus* y *Candida albicans* (De la Lastra et al., 2021; Gong et al., 2019; Khaskheli et al., 2020; Ross et al., 2014; Routhu et al., 2021; Toral et al., 2021), obteniendo resultados favorables.

Entre los aislamientos, 18 pudieron solubilizar el fosfato inorgánico. Estas bacterias pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter* y *Sinorhizobium*, mientras que solo 4 aislamientos pudieron solubilizar Zinc, todas del género *Burkholderia*, a pesar de los escasos estudios, algunas de las bacterias de cacao tuvieron capacidad solubilizadora de fosfato en condiciones in vitro, tales como *Pseudomonas* y *Bacillus* (Alsultan et al., 2019; Koua

et al., 2020). No se encontraron investigaciones previas de cepas solubilizadoras de fosfato de los géneros *Burkholderia*, *Enterobacter* y *Sinorhizobium* asociadas a la rizosfera de *Theobroma cacao*. Sin embargo, los géneros *Burkholderia* y *Enterobacter* fueron aisladas de otras plantas hospederas donde se evaluó la capacidad solubilizadora de fosfato, mostrando así valores óptimos para ser considerados dentro de fertilizantes con capacidad de promover el crecimiento vegetal y favorecer la disponibilidad de P en el suelo (Massenssini et al., 2016; Moreno et al., 2021; Restrepo et al., 2015). En cuanto a la solubilización de zinc de cepas del género *Burkholderia* presentes en la rizósfera de cacao, las investigaciones son escasas, sin embargo, hallazgos recientes demuestran la presencia de *Burkholderia* en rizosfera de *Oriza sativa*, donde sugieren que estas cepas podría ser candidato potencial para mejorar la disolución de Zinc en el suelo (Bhakat et al., 2021), sabiendo que el zinc es un micro nutriente para las plantas, lo cual es necesario para su crecimiento, siendo uno de los problemas la poca cantidad de Zinc en el suelo de forma soluble (Castagno et al., 2021; Kamran et al., 2017).

También se evaluó la capacidad productora de sideróforos, donde doce cepas presentaron buenos resultados, siendo la mayoría de ellos del género *Pseudomonas*, seguido por los géneros *Burkholderia*, *Bacillus* y *Cupriavidus*. Los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* fueron aislados de suelos rizosféricos de cacao, donde ambos fueron capaces de producir sideróforos (Acebo et al., 2015; Thomas et al., 2011). Es bien sabido que el papel principal del sideróforos implica la unión del hierro y particularmente las bacterias Gram negativas presentan moléculas receptoras en la membrana celular que facilitan la obtención del hierro soluble, específicamente el ion ferroso, siendo así las cepas de *Pseudomonas* sp. mas descritas como productoras de sideróforos, así mismo, en distintas investigaciones se observa un comportamiento dual, donde los aislamientos productores de sideróforos también pueden ejercer un efecto antagónico, apoyando así los

resultados obtenidos en este estudio (Álvarez et al., 2020; de Oliveira et al., 2021; Gallegos et al., 2023; Motta et al., 2022).

La acumulación de metales pesados viene siendo un problema para los cultivos, en nuestra investigación solo los aislamientos del género *Burkholderia* mostraron esa capacidad para eliminar el cadmio hasta un 54.9%, investigaciones recientes demostraron que la cepa *Burkholderia* NB10 presento una resistencia al Cd pudiendo crecer hasta los 140 mg/kg (Cordoba et al., 2021), del mismo modo en ensayos bajo condiciones in vitro, se observó una cepa S-17 de *Burkholderia* para capturar el Cd intracelular (Feria et al., 2022).

## VI. CONCLUSIONES

- La comunidad bacteriana presente en la rizósfera de cacao en su gran mayoría está conformada por la familia Bacillaceae integrado por los géneros *Bacillus*, *Neobacillus*, *Peribacillus* y *Fictibacillus*.
- Existen cepas del género *Bacillus* con hasta tres rasgos PGPR tales como: producción de sideróforos, solubilización de fosfato y capacidad antagónica.
- El rasgo PGPR mas dominante en la comunidad bacteriana rizosférica es la actividad antagónica.
- La solubilización de Zinc y remoción de cadmio son los rasgos PGPR expresado en pocos aislamientos.

## VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda profundizar en la identificación de los géneros *Bacillus* y *Burkholderia*, con la finalidad de desarrollar biofertilizantes y biocontroladores, debido a su capacidad antagónica frente a patógenos, solubilización de nutrientes y remoción de cadmio. Estas cepas deben ser evaluadas en condiciones de campo para optimizar su aplicación en cultivos de cacao, promoviendo una agricultura sostenible y reduciendo el uso de agroquímicos.

### VIII. REFERENCIAS

- Acebo, Y., Hernández, A., Vandeputte, O., Miguélez, Y., Heydrich, M., Ye, L., Cornelis, P., Bertin, P. y El Jaziri, M. (2015). Characterization of *Pseudomonas chlororaphis* from *Theobroma cacao* L. rhizosphere with antagonistic activity against *Phytophthora palmivora* (Butler). *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 1112–1126. <https://doi.org/10.1111/jam.12910>
- Ahmed, E. y Holmström, S. J. M. (2014). Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- Alsultan, W., Vadmalai, G., Khairulmazmi, A., Saud, H. M., Al-Sadi, A. M., Rashed, O., Jaaffar, A. K. M. y Nasehi, A. (2019). Isolation, identification and characterization of endophytic bacteria antagonistic to *Phytophthora palmivora* causing black pod of cocoa in Malaysia. *European Journal of Plant Pathology*, 155(4), 1077–1091. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01834-8>
- Álvarez, J. A., Santoyo, G. y Del, M. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 16(1), 1–10.
- Arce, M., González, A. R., Hernandez, E., Chuquibala, B., Chavez, A., Llanos, K. J., Leiva, S. T., Oliva, S. M. y Cumpa, L. M. (2022). Bioremediation potential of native *Bacillus* sp. strains as a sustainable strategy for cadmium accumulation of *Theobroma cacao* in Amazonas region. *Microorganisms*, 10(11), 2108. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112108>
- Arévalo, C. O. (2016). *Prospección de la densidad de esporas y colonización de micorrizas en*

*cacao silvestre de Ucayali y Madre de Dios* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio institucional. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/1968>

Bailey, B. A., Evans, H. C., Phillips Mora, W., Ali, S. S. y Meinhardt, L. W. (2018). *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1580–1594. <https://doi.org/10.1111/mpp.12648>

Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S. y Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233–266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>

Beltrán Pineda, M. E. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101–113. <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n1/v15n1a09.pdf>

Bhakat, K., Chakraborty, A. y Islam, E. (2021). Characterization of zinc solubilization potential of arsenic tolerant *Burkholderia* spp. isolated from rice rhizospheric soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(3), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03003-8>

Boss, B. L., Wanees, A. E., Zaslow, S. J., Normile, T. G. y Izquierdo, J. A. (2022). Comparative genomics of the plant-growth promoting bacterium *Sphingobium* sp. strain AEW4 isolated from the rhizosphere of the beachgrass *Ammophila breviligulata*. *BMC Genomics*, 23(508), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08738-8>

Carrera Sánchez, K., Paredes Mosquera, L. y Leiva Mora, M. (2014). Protocolo para el aislamiento de *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al. en frutos de cacao cv. "Nacional" de la

- Amazonía ecuatoriana. *Biotecnología Vegetal*, 14(3), 147–150.
- Carrillo, G., Juares, J. y Tijerina, G. (2011). Aislamiento de microorganismos inocuos productores para sistemas de fitorremediación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13, 501–509.
- Castagno, L. N., Sannazzaro, A. I., Gonzalez, M. E., Pieckenstain, F. L. y Estrella, M. J. (2021). Phosphobacteria as key actors to overcome phosphorus deficiency in plants. *Annals of Applied Biology*, 178(2), 256–267. <https://doi.org/10.1111/aab.12673>
- Chacón, I., Ramis, C. y Gómes, C. (2011). Descripción morfológica de frutos y semillas del cacao Criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 28(1), 1–13. [https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento\\_diciembre\\_2011/v28sup1a2011\\_pv\\_1.pdf](https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_diciembre_2011/v28sup1a2011_pv_1.pdf)
- Chancay, L. F., Delgado, M. y Salas, C. A. (2022). Cadmio en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) y sus efectos ambientales. *La Técnica: Revista de las Agrociencias*, 0(0), 91–104. [https://doi.org/10.33936/la\\_tecnica.v0i0.4324](https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i0.4324)
- Chochocca, R. R. S., Avila, E. G., Fernandez Rojas, J. H., Suazo, J. M. A., De La Cruz, A. R. H. y Hadi Mohamed, M. M. (2022). Antifungal effect from *Zingiber officinale*, *Aloe vera* and *Trichoderma* sp. for control of *Moniliophthora roreri* in *Theobroma cacao* in Huánuco, Peru. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 75(1), 9823–9830. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v75n1.95804>
- Cordoba, H. A., Cáceres, J. y Torres, E. (2021). Assessment of native cadmium-resistant bacteria in cacao (*Theobroma cacao* L.) - cultivated soils.

BioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2021.08.06.455168>

Cruz Cárdenas, C., Zelaya Molina, L. X., Sandoval Cancino, G., Santos Villalobos, S., Rojas Anaya, E., Fernando Chávez Díaz, I. y Ruíz Ramírez, S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: Consideraciones y retos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5), 899–913.

De la Cruz, N., Cruz, L., Holguín, F., Guillén, G. K. y Huerta, G. (2022). Volatile organic compounds produced by cacao endophytic bacteria and their inhibitory activity on *Moniliophthora roreri*. *Current Microbiology*, 79(2), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02696-2>

De la Lastra, E., Camacho, M. y Capote, N. (2021). Soil bacteria as potential biological control agents of *Fusarium* species associated with asparagus decline syndrome. *Applied Sciences*, 11(18), 8356. <https://doi.org/10.3390/app11188356>

De Oliveira, D. A., Ferreira, S. da C., Carrera, D. L. R., Serrão, C. P., Callegari, D. M., Barros, N. L. F., Coelho, F. M. y de Souza, C. R. B. (2021). Caracterización de bacterias *Pseudomonas* de *Piper tuberculatum* quanto à produção de compostos potencialmente bioestimulantes para o crescimento de plantas. *Acta Amazonica*, 51(1), 10–19. <https://doi.org/10.1590/1809-4392202002311>

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzales, L. A., Tablada, E. M. y Robledo, C. W. (2008). *InfoStat: Manual del usuario* (versión 2008). Editorial Brujas.

Díaz, J. R., Leiva, S. T. y Catherine, M. (2020). The history of cacao and its diseases in the Americas. *Phytopathology*, 110(10), 1604–1619. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-20-0178-RVW>

- Evans, H. C. (2016). Frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*). En B. A. Bailey & L. W. Meinhardt (Eds.), *Cacao diseases: A history of old enemies and new encounters* (pp. 63–96). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2_3)
- Feria, P. F., Penagos, L. y Moreno, C. X. (2022). Tolerance and cadmium (Cd) immobilization by native bacteria isolated in cocoa soils with increased metal content. *Microbiology Research*, 13(3), 556–573. <https://doi.org/10.3390/microbiolres13030039>
- Gallegos, G., Jiménez, O., Hernández, F. D., Espinoza, C., Castro del Angel, E. y Sanchez, J. M. (2023). Actividad antagónica de *Pseudomonas donghuensis* y *Bacillus subtilis* para el manejo de fitopatógenos del "Damping off". *Revista Bio Ciencias*, 10, e1382. <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1382>
- Gallegos, G., Jiménez, O., Sánchez, J. M., Álvarez, P. y Castillo, F. (2024). The sweet clover-*Sinorhizobium meliloti* system as a useful interaction for nitrogen fixation and as a soil improver. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 15(1), 208–229. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v15i1.6523>
- Gandhi, A. y Muralidharan, G. (2016). Assessment of zinc solubilizing potentiality of *Acinetobacter* sp. isolated from rice rhizosphere. *European Journal of Soil Biology*, 76, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.06.006>
- Giannelli, G., Bisceglie, F., Pelosi, G., Bonati, B., Cardarelli, M., Antenozio, M. L., Degola, F. y Visioli, G. (2022). Phyto-beneficial traits of rhizosphere bacteria: In vitro exploration of plant growth promoting and phytopathogen biocontrol ability of selected strains isolated from harsh environments. *Plants*, 11(2), 230. <https://doi.org/10.3390/plants11020230>
- Glick, B. R., Penrose, D. M. y Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene

concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190(1), 63–68. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1997.0532>

Gong, A. D., Dong, F. Y., Hu, M. J., Kong, X. W., Wei, F. F., Gong, S. J., Zhang, Y. M., Zhang, J. B., Wu, A. B. y Liao, Y. C. (2019). Antifungal activity of volatile emitted from *Enterobacter asburiae* Vt-7 against *Aspergillus flavus* and aflatoxins in peanuts during storage. *Food Control*, 106, 106718. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106718>

Goswami, D., Thakker, J. N. y Dhandhukia, P. C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1127500. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1127500>

Gray, E. J. y Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 395–412. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.030>

Guerra, P. A. (2015). *Producción y caracterización de Biochar a partir de la biomasa residual* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina].

Instuto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual. (2016). *Cooperativa Central de productores agrarios de Amazonas (CEPROAA), de Perú*. <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20795/200046/Cacao+Amazonas+Peru/4a345d9a-0ac4-189d-a248-2d172f3013d7>

Kamran, S., Shahid, I., Baig, D. N., Rizwan, M., Malik, K. A. y Mehnaz, S. (2017). Contribution of zinc solubilizing bacteria in growth promotion and zinc content of wheat. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2593. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02593>

Kaur, N., Rajendran, M. K., Kaur, G. y Shanmugam, M. (2014). *Isoptericola rhizophila* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from rhizosphere soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(2), 301–307. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0197-1>

Khaskheli, M. A., Wu, L., Chen, G., Chen, L., Hussain, S., Song, D., Liu, S. y Feng, G. (2020). Isolation and characterization of root-associated bacterial endophytes and their biocontrol potential against major fungal phytopathogens of rice (*Oryza sativa* L.). *Pathogens*, 9(3), 172. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030172>

Koua, S. H., N'golo, D. C., Alloue-Boraud, W. M., Konan, F. y Dje, K. M. (2020). *Bacillus subtilis* strains isolated from cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) rhizosphere for their use as potential plant growth promoting rhizobacteria in Côte d'Ivoire. *Current Microbiology*, 77(9), 2258–2264. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02027-x>

Kumar Jha, C. y Saraf, M. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *E3 Journal of Agricultural Research and Development*, 5(2), 108–119.

Lederberg, J. y Lederberg, E. M. (1951). Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *Journal of Bacteriology*, 63(3), 399–406. <https://doi.org/10.1128/jb.63.3.399-406.1951>

Leite, H. A. C., Silva, A. B., Gomes, F. P., Gramacho, K. P., Faria, J. C., De Souza, J. T. y Loguercio, L. L. (2013). *Bacillus subtilis* and *Enterobacter cloacae* endophytes from healthy *Theobroma cacao* L. trees can systemically colonize seedlings and promote growth. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(6), 2639–2651. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4574-2>

Leiva, S., Oliva, M., Hernández, E., Chuquibala, B., Rubio, K., García, F. y de la Cruz, M. T.

- (2020). Assessment of the potential of *Trichoderma* spp. strains native to Bagua (Amazonas, Peru) in the biocontrol of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*). *Agronomy*, 10(9), 1376. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091376>
- León, J. (1968). *Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales*. IICA.
- Letunic, I. y Bork, P. (2021). Interactive tree of life (iTOL) v5: An online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W293–W296. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>
- Llatance, W., Julián Gonza Saavedra, C., Guzmán Castillo, W. y Pariente Mondragón, E. (2018). Bioaccumulation of cadmium in cocoa (*Theobroma cacao*) in the Native Community of Pakun, Peru. *Revista Forestal del Perú*, 33(1), 63–75. <https://doi.org/10.21704/rfp.v33i1.1156>
- Massenssini, A. M., Tótola, M. R., Borges, A. C. y Costa, M. D. (2016). Isolamento e caracterização de bactérias solubilizadoras de fosfato da rizosfera de *Eucalyptus* sp. *Revista Árvore*, 40(1), 125–134. <https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100014>
- Mayz Figueroa, J. (2004). Fijación biológica de nitrógeno. *Revista UDO Agrícola*, 4(1), 1–10.
- Miles, A. A., Misra, S. S. y Irwin, J. O. (1938). The estimation of the bactericidal power of the blood. *Journal of Hygiene*, 38(6), 732–749. <https://doi.org/10.1017/S002217240001158X>
- Ministerio de Agricultura y Riego, Dirección General de Promoción Agraria y Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria. (2015). *Situación actual y perspectivas en el mercado nacional e internacional del cacao al 2015*. Ministerio de Agricultura y Riego.

- Moore, E., Arnscheidt, A., Kruger, A., Strömpl, C. y Mau, M. (2004). Simplified protocols for the preparation of genomic DNA from bacterial cultures. *Molecular Microbial Ecology Manual*, 1(1), 3–18. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9014-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9014-1_1)
- Moreno, L. M., López, M. y Barrera, F. M. C. (2021). Phosphate solubilization by *Burkholderia* species isolated from Oxisols from the Colombian high plains. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(2), e1897. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol22\\_num2\\_art:1897](https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num2_art:1897)
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., da Silva e Mota, J. W., Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S. y Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *PLOS ONE*, 3(10), e3311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Motta, S., Salazar, L. D. y Sánchez, L. C. (2022). Perspectiva del uso de *Pseudomonas* spp. como biocontrol de fitopatógenos en cultivos de hortalizas en Colombia: Una revisión sistemática. *Revista Mutis*, 12(2), 1–20. <https://doi.org/10.21789/22561498.1862>
- Nabti, E., Bensidhoum, L., Tabli, N., Dahel, D., Weiss, A., Rothballer, M., Schmid, M. y Hartmann, A. (2014). Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium* sp. strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. *European Journal of Soil Biology*, 61, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.12.008>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A. y Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268–274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>

Oliva, M. y Jorge, Q. (2020). Identificación y selección de ecotipos de cacao nativo fino de aroma de la zona nor oriental del Perú. *Revista de Investigación Agroproducción Sustentable*, 4(2), 31–39. <https://doi.org/10.25127/aps.20202.556>

Oliva, M., Rubio, K., Epquin, M., Marlo, G. y Leiva, S. (2020). Cadmium uptake in native cacao trees in agricultural lands of Bagua, Peru. *Agronomy*, 10(10), 1551. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101551>

Organización Mundial de la Salud. (2010). *Límites de exposición profesional a los metales pesados recomendados por razones de salud*. [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41251/WHO\\_TRS\\_647\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41251/WHO_TRS_647_spa.pdf)

Ouattara, A., Coulibaly, K., Konate, I., Ismael Kebe, B., Sanogo Tidou, A. y Filali-Maltouf, A. (2019). Selection of cocoa tree (*Theobroma cacao* Linn) endophytic bacteria solubilizing tri-calcium phosphate, isolated from seedlings grown on soils of six producing regions of Côte d'Ivoire. *Advances in Microbiology*, 9(9), 842–852. <https://doi.org/10.4236/aim.2019.99051>

Pandey, N. y Bhatt, R. (2015). Arsenic resistance and accumulation by two bacteria isolated from a natural arsenic contaminated site. *Journal of Basic Microbiology*, 55(11), 1275–1286. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400723>

Pérez Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio Rivera, L. y Fernández, F. (2007). O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of Microbiological Methods*, 70(1), 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.03.023>

Pérez, R., González, T. S. y Muñoz, J. (2014). Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) y maíz (*Zea*

Mays). *Revista Iberoamericana de Ciencia*, 1(3), 54–60.

Pérez, R., Pérez, S. y Almeida, I. (2021). Effect of the inoculation of PGPR isolated from corn on the growth. *Cultivos Tropicales*, 42(3), e12.

Posada, A. M., Mejía, D. P., Polanco, D. y Cardona, J. A. (2021). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 161–178. <https://doi.org/10.22490/21456453.4040>

Quiñones, M., Espinoza, E., Yovera, F., Cuchilla, Y. y Castro, D. (2018). Identificación, georreferenciación y caracterización morfológica de árboles superiores de *Theobroma cacao* L. 1753 cultivar cacao blanco de Piura, Perú. *The Biologist (Lima)*, 16(1), 105–117. <https://revistas.unfv.edu.pe/rtb/article/view/225>

Quintero, M. y Díaz, K. (2004). El mercado mundial de cacao. *Agroalimentaria*, 18, 47–59.

Restrepo, G., Marulanda, S., de la Fe Pérez, Y., Díaz de la Osa, A., Lucia, V. y Hernández, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *CENIC Ciencias Biológicas*, 46(1), 63–76.

Rofner, N. F. (2021). Revisión sobre límites máximos de cadmio en cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Ciencias de la Vida*, 34(2), 117–130. <https://doi.org/10.17163/lgr.n34.2021.08>

Ross, C., Opel, V., Scherlach, K. y Hertweck, C. (2014). Biosynthesis of antifungal and antibacterial polyketides by *Burkholderia gladioli* in coculture with *Rhizopus microsporus*. *Mycoses*, 57(s3), 48–55. <https://doi.org/10.1111/myc.12246>

- Rout, G. R. y Sahoo, S. (2015). Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, 3, 1–24. <https://doi.org/10.7831/ras.3.1>
- Routhu, S. R., Ragi, N. C., Yedla, P., Shaik, A. B., Venkataraman, G., Cheemalamarri, C., Chityala, G. K., Amanchy, R., Sripadi, P. y Kamal, A. (2021). Identification, characterization and evaluation of novel antifungal cyclic peptides from *Neobacillus drentensis*. *Bioorganic Chemistry*, 115, 105180. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105180>
- San Blas, E., Carrillo, Z. y Parra, Y. (2012). Effect of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria and their exudates on *Moniliophthora roreri*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(16), 1950–1967.
- Santi, C., Bogusz, D. y Franche, C. (2013). Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of Botany*, 111(5), 743–767. <https://doi.org/10.1093/aob/mct048>
- Sarkar, A., Islam, T., Biswas, G. C., Alam, S., Hossain, M. y Talukder, N. M. (2012). Screening for phosphate solubilizing bacteria inhabiting the rhizoplane of rice grown in acidic soil in Bangladesh. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 59(2), 199–213. <https://doi.org/10.1556/AMicr.59.2012.2.5>
- Serrano, L., Sosa Moreno, A., Sosa Del Castillo, D., Bonilla, J., Romero, C. A., Galarza, L. L. y Coronel león, J. R. (2021). Biosurfactants synthesized by endophytic *Bacillus* strains as control of *Moniliophthora perniciosa* and *Moniliophthora roreri*. *Scientia Agricola*, 78, e20200172. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2020-0172>
- Somers, E., Vanderleyden, J. y Srinivasan, M. (2004). Rhizosphere bacterial signalling: A love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*, 30(4), 205–

240. <https://doi.org/10.1080/10408410490468786>

Steenhoudt, O. y Vanderleyden, J. (2000). *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: Genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(4), 487–506. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x>

Tejera, M. H. (2012). Antagonismo de *Bacillus* spp. frente a hongos fitopatógenos del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista de Protección Vegetal*, 27(2), 95–102.

Thomas, L., Gupta, A., Gopal, M., Mohanan, R., George, P. y Thomas, G. (2011). Evaluation of rhizospheric and endophytic *Bacillus* spp. and fluorescent *Pseudomonas* spp. isolated from *Theobroma cacao* L. for antagonistic reaction to *Phytophthora palmivora*, the causal organism of black pod disease of cocoa. *Journal of Plantation Crops*, 39(3), 370–376.

Toral, L., Rodríguez, M., Martínez-Checa, F., Montaño, A., Cortés-Delgado, A., Smolinska, A., Llamas, I. y Sampedro, I. (2021). Identification of volatile organic compounds in extremophilic bacteria and their effective use in biocontrol of postharvest fungal phytopathogens. *Frontiers in Microbiology*, 12, 773092. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.773092>

Vera, M. A., Bernal, A., Vera, D., Leiva, M., Rivero, A. y Vera, A. E. (2020). Antagonismo *in vitro* de bacterias endófitas formadoras de endosporas frente a *Moniliophthora roreri* H.C Evans et al. *Revista de Protección Vegetal*, 35(2), e07.

Verma, P., Yadav, A. N., Khannam, K. S., Kumar, S., Saxena, A. K. y Suman, A. (2016). Molecular diversity and multifarious plant growth promoting attributes of Bacilli associated with wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere from six diverse agro-ecological

zones of India. *Journal of Basic Microbiology*, 56(1), 44–

58. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500459>

Vincent, J. M. (1970). *A manual for the practical study of root-nodule bacteria*. Blackwell Scientific.

Wibowo, A., Joko, T., Subandiyah, S. y Kageyama, K. (2020). Antagonistic potential of endophytic bacteria against *Phytophthora palmivora* causing black pod rot disease on cacao (*Theobroma cacao* L.) in Indonesia. *Plant Pathology Journal*, 19(1), 22–41. <https://doi.org/10.3923/ppj.2020.22.41>

Wyszkowska, J., Boros-Lajszner, E., Borowik, A. y Kucharski, J. (2022). The role of cellulose in microbial diversity changes in the soil contaminated with cadmium. *Sustainability*, 14(21), 14042. <https://doi.org/10.3390/su142114242>

Zarrillo, S., Gaikwad, N., Lanaud, C., Powis, T., Viot, C., Lesur, I., Fouet, O., Argout, X., Guichoux, E., Salin, F., Solorzano, R. L., Bouchez, O., Vignes, H., Severts, P., Hurtado, J., Yepez, A., Grivetti, L., Blake, M. y Valdez, F. (2018). The use and domestication of *Theobroma cacao* during the mid-Holocene in the upper Amazon. *Nature Ecology & Evolution*, 2(12), 1879–1888. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0697-x>

Zhang, R., Chen, L., Niu, Z., Song, S. y Zhao, Y. (2019). Water stress affects the frequency of Firmicutes, Clostridiales and *Lysobacter* in rhizosphere soils of greenhouse grape. *Agricultural Water Management*, 226, 105776. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.105776>

Zug, K. L. M., Huamaní Yupanqui, H. A., Meyberg, F., Cierjacks, J. S. y Cierjacks, A. (2019). Cadmium accumulation in Peruvian cacao (*Theobroma cacao* L.) and opportunities for

mitigation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(3), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4109-x>

Zúñiga, K. (2008). Estudio de la microflora de la rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la provincia de Huanuco. *Zonas Áridas*, 12(1), 191–208.

## IX. ANEXOS

### Anexo A. Secuencias de referencia utilizadas para el análisis filogenético

<b>Especie</b>	<b>Numero de Acceso</b>	<b>Especie</b>	<b>Numero de Acceso</b>
<i>Agrobacterium albertimagni</i> AOL15	AF316615	<i>Pseudomonas taiwanensis</i> BCRC 17751	EU103629
<i>Agrobacterium leguminum</i> MOPV5	MT075578	<i>Pseudomonas guariconensis</i> PCAVU11	HF674459
<i>Agrobacterium cavaeae</i> RZME10	MK940276	<i>Pseudomonas entomophila</i> L48	AY907566
<i>Agrobacterium fabacearum</i> CNPSO	MN741112	<i>Pseudomonas soli</i> F 279	HF930598
<i>Agrobacterium vaccinii</i> B7	MT460399	<i>Pseudomonas tarimensis</i> MA 69	KC709664
<i>Agrobacterium deltaense</i> YIC 4121	KR362871	<i>Pseudomonas kuykendallii</i> H2	JF749828
<i>Agrobacterium fabrum</i> C58	AE007869	<i>Pseudomonas sihuiensis</i> WM 2	KC311562
<i>Agrobacterium skienewicense</i> Ch11	HQ823551	<i>Pseudomonas chengduensis</i> MBR	EU307111
<i>Agrobacterium rosae</i> NCPPB 1650	MF443188	<i>Pseudomonas oryzae</i> WM 3	KF317694
<i>Agrobacterium rubi</i> IFO 13261	D14503	<i>Pseudomonas sagittaria</i> CC OPY 1	JQ277453
<i>Agrobacterium larrymoorei</i> 3 10	Z30542	<i>Pseudomonas saudimassiliensis</i> 12M76 air	HG931341
<i>Agrobacterium salinitolerans</i> YIC 5082	KP142169	<i>Pseudomonas populi</i> KBL 4 9	KC967032
<i>Agrobacterium nepotum</i> 39 7	FR870231	<i>Rhizobium ecuadorense</i> CNPSO 671	JN129381
<i>Agrobacterium pusense</i> NRCPB10	FJ969841	<i>Rhizobium ruizarguesonis</i> UMP1133	MG904297
<i>Agrobacterium radiobacter</i> IAM 12048	AB247615	<i>Rhizobium pongamiae</i> VKLR 01	GQ444136
<i>Agrobacterium arsenijevicai</i> KFB 330	KP172482	<i>Rhizobium populisoli</i> XQZ8	MZ558725
<i>Arthrobacter cavernae</i> po 11	MW711158	<i>Rhizobium indicum</i> JKLM 12A2	MK949132
<i>Arthrobacter gandavensis</i> R 5812	AJ316140	<i>Rhizobium terrae</i> NAU 18	MH244125
<i>Arthrobacter bussei</i> KR32	MN080869	<i>Rhizobium rhizolycopersici</i> DBTS2	MT703880
<i>Arthrobacter jiangjiafuii</i> zg ZUI227	MW715061	<i>Rhizobium daejeonense</i> NBRC 102495	AB681832
<i>Arthrobacter sunyaminii</i> zg ZUI122	MW869856	<i>Rhizobium rhizophilum</i> 7209 2	KX017286
<i>Arthrobacter sedimenti</i> MIC A30	MN888776	<i>Rhizobium leguminosarum</i> USDA 2370	MF977620
<i>Arthrobacter mobilis</i> E918	MT326212	<i>Rhizobium alamii</i> LMG 24466	MF977621
<i>Arthrobacter deserti</i> YIM CS25	KT946776	<i>Rhizobium calliandrae</i> CCGE 524	JX855162
<i>Arthrobacter wenxiniae</i> AETb 3 4	MN636294	<i>Rhizobium changzhienense</i> WYCCWR 11279	MH778807
<i>Arthrobacter crusticola</i> SLN 3	MK621196	<i>Rhizobium flavescens</i> FML 4	MN395025
<i>Arthrobacter sulfonylureivorans</i> LAM7117	MG009252	<i>Rhizobium wuzhouense</i> W44	MF066952
<i>Arthrobacter cheniae</i> Hz2	JX949321	<i>Rhizobium arsenicireducens</i> KAs 5 22	JX173993
<i>Arthrobacter frigidicola</i> MDT2 14	JX949673	<i>Rhizobium etli</i> CFN 42	EU488751

<i>Arthrobacter keyseri</i> 12B	AF256196	<i>Rhizobium croatiense</i> 13TT	MK753105
<i>Arthrobacter terricola</i> JH1 1	MG210584	<i>Rhizobium indigoferae</i> CCBAU 71042	AF364068
<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> DSM 20117 T	X80738	<i>Rhizobium redzepovicii</i> 18TT	MK753107
<i>Arthrobacter terrae</i> Z1 20	MN334158	<i>Rhizobium cremeum</i> W15	MW633225
<i>Arthrobacter stackebrandtii</i> CCM 2783	AJ640198	<i>Rhizobium freirei</i> PRF 81	EU488742
<i>Arthrobacter humicola</i> KV 653 T	AB279890	<i>Rhizobium oryzihabitans</i> M15	MT023790
<i>Arthrobacter psychrochitiniphilus</i> JCM 13874	AB588633	<i>Rhizobium tropici</i> IFO 15247	D11344
<i>Arthrobacter citreus</i> DSM 20133	X80737	<i>Rhizobium paranaense</i> PRF 35	EU488753
<i>Arthrobacter liui</i> DSXY973	KJ082091	<i>Rhizobium phaseoli</i> ATCC 14482	EF141340
<i>Arthrobacter agilis</i> DSM 20550	X80748	<i>Rhizobium selenitireducens</i> B1	EF440185
<i>Arthrobacter globiformis</i> JCM 1332	AB089841	<i>Rhizobium tubonense</i> CCBAU 85046	EU256434
<i>Arthrobacter alpinus</i> S6 3	AB920567	<i>Rhizobium leucaenae</i> LMG 9517	X67234
<i>Arthrobacter russicus</i> DSM 14555	MG946228	<i>Rhizobium rhizogenes</i> IFO 13257	D14501
<i>Arthrobacter flavus</i> JCM 11496	KT989846	<i>Rhizobium rosettiformans</i> W 3	EU781656
<i>Arthrobacter ramosus</i> DSM 20546	X80742	<i>Rhizobium sophorae</i> CCBAU 03386	KJ831229
<i>Arthrobacter psychrolactophilus</i> B7	AF134179	<i>Rhizobium acidisolii</i> LMG 28672	MK751646
<i>Arthrobacter pokkalii</i> P3B162	KM507333	<i>Rhizobium cellulosilyticum</i> ALA10B2	DQ855276
<i>Arthrobacter bambusae</i> THG GM18	KF150696	<i>Rhizobium aggregatum</i> IFAM 1003	X73041
<i>Arthrobacter ruber</i> MDB1 42	JX949648	<i>Rhizobium helianthi</i> Xi19	JQ032629
<i>Arthrobacter silvisoli</i> NEAU SA1	MH063845	<i>Rhizobium albus</i> Y21	KU245743
<i>Arthrobacter nanjingensis</i> A33	KF479547	<i>Rhizobium anhuiense</i> CCBAU 23252	KF111868
<i>Arthrobacter roseus</i> CMS90	AJ278870	<i>Rhizobium halophytocola</i> YC6881	GU322905
<i>Arthrobacter alkaliphilus</i> LC6	AB248527	<i>Rhizobium gallicum</i> R 602 sp	AF008130
<i>Arthrobacter pascens</i> DSM 20545	X80740	<i>Rhizobium chutanense</i> C5	KJ438829
<i>Arthrobacter silviterrae</i> KIS14 16	KY608092	<i>Rhizobium ipomoeae</i> shin9 1	HE866935
<i>Arthrobacter methylotrophus</i> TGA	AF235090	<i>Rhizobium favelukesii</i> LPU83	HG916852
<i>Arthrobacter senegalensis</i> Marseille P4198	LS999985	<i>Rhizobium tibeticum</i> CCBAU 85039	EU256404
<i>Arthrobacter livingstonensis</i> LI2	GQ406811	<i>Rhizobium mongolense</i> USDA 1844	U89817
<i>Arthrobacter saudimassiliensis</i> 11W110 air	HG931344	<i>Rhizobium subbaraoi</i> JC85	FR714938
<i>Arthrobacter tecti</i> LMG 22282	AJ639829	<i>Rhizobium bangladeshense</i> BLR175	JN648931
<i>Arthrobacter luteolus</i> CF 25	AJ243422	<i>Rhizobium populi</i> K 38	KC609734
<i>Arthrobacter oryzae</i> KV 651	AB279889	<i>Rhizobium phenanthrenilyticum</i> F11	FJ743436
<i>Arthrobacter cupressi</i> D48	HQ657321	<i>Rhizobium aegyptiacum</i> 1010	JQ670243

<i>Arthrobacter paludis</i> CAU 9143	JN176140	<i>Rhizobium viscosum</i> LMG 16473	AJ639832
<i>Arthrobacter woluwensis</i> 1551	X93353	<i>Rhizobium metallidurans</i> ChimEc512	JX678769
<i>Arthrobacter celericrescens</i> NEAU SA2	MH063435	<i>Rhizobium naphthalenivorans</i> TSY03b	AB663504
<i>Arthrobacter castelli</i> LMG 22283	AJ639826	<i>Rhizobium multihospitium</i> CCBAU 83401	EF035074
<i>Arthrobacter monumenti</i> LMG 19502	AJ315070	<i>Rhizobium paknamense</i> L6 8	AB733647
<i>Arthrobacter rhombi</i> F 98 3HR 69	Y15885	<i>Rhizobium capsici</i> CC SKC2	HQ113369
<i>Arthrobacter glacialis</i> HLT2 12 2	JX949500	<i>Rhizobium hainanense</i> I66	U71078
<i>Arthrobacter subterraneus</i> CH7	DQ097525	<i>Rhizobium altiplani</i> BR 10423	KX022634
<i>Arthrobacter nitrophenolicus</i> SJCon	GQ927310	<i>Rhizobium cauense</i> CCBAU 101002	JQ308326
<i>Arthrobacter pityocampae</i> Tp2	EU855749	<i>Rhizobium mesosinicum</i> CCBAU 25010	DQ100063
<i>Arthrobacter ginsengisoli</i> DCY 81	KF212463	<i>Rhizobium soli</i> DS 42	EF363715
<i>Arthrobacter ginkgonis</i> SYP A7299	KP128918	<i>Rhizobium panacihumi</i> DCY116	KY996486
<i>Arthrobacter dextranlyticum</i> T6	AB117515	<i>Rhizobium alvei</i> TNR 22	HE649224
<i>Arthrobacter echini</i> AM23	KJ789956	<i>Rhizobium rhizoryzae</i> J3 AN59	EF649779
<i>Arthrobacter cryoconiti</i> Cr6 08	GU784867	<i>Rhizobium endophyticum</i> CCGE 2052	EU867317
<i>Arthrobacter parietis</i> LMG 22281	AJ639830	<i>Rhizobium glycinendophyticum</i> CL12	MF383489
<i>Arthrobacter koreensis</i> CA15 8	AY116496	<i>Rhizobium straminoryzae</i> CC LY845	KF444510
<i>Arthrobacter dokdonellae</i> DCT 5	MH718805	<i>Rhizobium mesoamericanum</i> CCGE 501	JF424606
<i>Arthrobacter gyeryongensis</i> DCY 72	JX141781	<i>Rhizobium lentis</i> BLR27	JN648905
<i>Arthrobacter pigmenti</i> LMG 22284	AJ639827	<i>Rhizobium album</i> NS 104	MH211390
<i>Arthrobacter tumbae</i> LMG 19501	AJ315069	<i>Rhizobium lusitanum</i> P1 7	AY738130
<i>Arthrobacter halodurans</i> JSM 078085	EU583729	<i>Rhizobium qilianshanense</i> CCNWQLS01	JQ728555
<i>Arthrobacter ulcerisalmonis</i> T11b	MK211245	<i>Rhizobium kunmingense</i> LXD30	FJ560597
<i>Alkalihalobacillus patagoniensis</i> PAT 05	AY258614	<i>Rhizobium miluonense</i> CCBAU 41251	EF061096
<i>Alkalihalobacillus lindianensis</i> 12 3	KP954690	<i>Rhizobium lemnae</i> L6 16	AB738386
<i>Alkalihalobacillus xiaoxiensis</i> JSM 081004	HM054474	<i>Rhizobium zeae</i> CRZM18R	KX932068
<i>Alkalihalobacillus gibsonii</i> DSM 8722	MN410789	<i>Rhizobium sullae</i> IS 123	Y10170
<i>Alkalihalobacillus oceanii</i> CGMCC 1 12347	MT759874	<i>Rhizobium wenxiniae</i> 166	KR610521
<i>Alkalihalobacillus halodurans</i> ATCC 27557	AB021187	<i>Rhizobium helanshanense</i> Qtx 14	GU201840
<i>Alkalihalobacillus pseudofirmus</i> DSM 8715	X76439	<i>Rhizobium pisi</i> DSMZ 30132	AY509899
<i>Alkalihalobacillus hemicellulosilyticus</i> C 11	AB043846	<i>Rhizobium jaguaris</i> CCGE 525	JX855169
<i>Alkalihalobacillus urbisdiaboli</i> FJAT 45385	KY612314	<i>Rhizobium gei</i> ZFJT 2	KF551166
<i>Alkalihalobacillus shacheensis</i> HNA 14	HQ620634	<i>Rhizobium smilacinae</i> PTYR 5	KF551141

<i>Alkalihalobacillus murimartini</i> LMG 21005	AJ316316	<i>Rhizobium pakistanense</i> BN 19	AB854065
<i>Alkalihalobacillus berkeleyi</i> KMM 6244	JN187498	<i>Rhizobium sphaerophysae</i> CCNWGS0238	FJ154088
<i>Alkalihalobacillus okhensis</i> Kh10 101	DQ026060	<i>Rhizobium hedysari</i> 5 1 2	KU358685
<i>Alkalihalobacillus hunanensis</i> JSM 081003	HM054473	<i>Rhizobium yanglingense</i> SH 22623	AF003375
<i>Alkalihalobacillus nanhaiisediminis</i> NH3	GQ292773	<i>Rhizobium aquaticum</i> SA 276	KM083136
<i>Alkalihalobacillus bogoriensis</i> LBB3	AY376312	<i>Rhizobium tumorigenes</i> 1078	MG018989
<i>Alkalihalobacillus alkalinitrilicus</i> ANL iso4	EF422411	<i>Rhizobium sophoriradicis</i> CCBAU 03470	KJ831225
<i>Alkalihalobacillus alcalophilus</i> DSM 485	X60603	<i>Rhizobium grahamii</i> CCGE 502	JF424608
<i>Alkalihalobacillus oshimensis</i> K11	AB188090	<i>Rhizobium oryzicola</i> ZYY136	JX446583
<i>Alkalihalobacillus miscanthi</i> AK13	MN508905	<i>Rhizobium vallis</i> CCBAU 65647	FJ839677
<i>Bacillus subtilis</i> DSMZ 10	MK256302	<i>Rhizobium esperanzae</i> CNPSO 668	KC293513
<i>Bacillus aerius</i> 24K	AJ831843	<i>Rhizobium aethiopicum</i> HBR26	JN580610
<i>Bacillus sonorensis</i> NRRL B 23154	EU138473	<i>Rhizobium mayenseb</i> CCGE526	JX855172
<i>Bacillus mojavensis</i> NRRL B 14698	EU138460	<i>Rhizobium binae</i> BLR195	JN648932
<i>Bacillus tequilensis</i> 10b	HQ223107	<i>Rhizobium hidalgense</i> FH14	KJ921034
<i>Bacillus stratosphericus</i> 41KF2a	KJ590136	<i>Rhizobium puerariae</i> PC004	LC014930
<i>Bacillus xiamenensis</i> HYC 10	AMSH01000114	<i>Rhizobium massiliense</i> CIP 107749	AF531767
<i>Bacillus aerophilus</i> 28K	AJ831844	<i>Rhizobium laguerreae</i> FB206	JN558651
<i>Bacillus altitudinis</i> 41KF2b	AJ831842	<i>Rhizobium deserti</i> SPY 1	MK685279
<i>Bacillus safensis</i> FO 036b	KY034392	<i>Lysobacter psychrotolerans</i> Zs60	JQ977478
<i>Bacillus pumilus</i> NRRL NRS 272	EU138517	<i>Lysobacter penaei</i> SG 8	MT821233
<i>Bacillus aquiflavi</i> 3 H 10	MN088608	<i>Lysobacter chinensis</i> TLK CK17	OK143236
<i>Bacillus fungorum</i> 17 SMS 01	MG601116	<i>Lysobacter terrigena</i> 17J7 1	LC433920
<i>Bacillus inaquosorum</i> NRRL B 23052	EU138467	<i>Lysobacter luteus</i> AS29M	MZ047093
<i>Bacillus testis</i> SIT10	LN827531	<i>Lysobacter solisilvae</i> R19	MW173243
<i>Bacillus pichinotyi</i> YAM2	JX203257	<i>Lysobacter arenosi</i> R7	MN197915
<i>Bacillus piscicola</i> PCU 340	MT758153	<i>Lysobacter prati</i> SYSU H10001	MN181427
<i>Bacillus pacificus</i> EB422	FJ785476	<i>Lysobacter terrestris</i> II4	MK215831
<i>Bacillus tepidiphilus</i> SYSU G01002	MN595122	<i>Lysobacter lacus</i> UKS 15	KP893900
<i>Bacillus telluris</i> 03113	MN907472	<i>Lysobacter antarcticus</i> GW1 59	MN650237
<i>Bacillus velezensis</i> NRRL B 41580	EU138484	<i>Lysobacter avium</i> H23M41	MT764977
<i>Bacillus vallismortis</i> NRRL B 14890	EU138463	<i>Lysobacter ciconiae</i> H21R20	MT764981
<i>Bacillus badius</i> ATCC 14574	D78310	<i>Lysobacter xinjiangensis</i> RCML 52	EU833988

<i>Bacillus wudalianchiensis</i> FJAT 27215	KT362901	<i>Lysobacter enzymogenes</i> DSM 2043	AJ298291
<i>Bacillus spizizenii</i> NRRL B 23049	EU138464	<i>Lysobacter korlensis</i> ZLD 17	EU908051
<i>Bacillus alkalicellulosilyticus</i> FJAT 44921	KY640613	<i>Lysobacter koreensis</i> NBRC 101156	AB681400
<i>Bacillus stercoris</i> JCM 30051	MN536904	<i>Lysobacter capsici</i> YC5194	EF488749
<i>Bacillus benzoeverans</i> CCM 3364	MT760051	<i>Lysobacter concretionis</i> Ko07	AB161359
<i>Bacillus aerolatus</i> CX253	MN442345	<i>Lysobacter bugurensis</i> ZLD 29	EU780693
<i>Bacillus clarus</i> ATCC 21929	MH918154	<i>Lysobacter gummosus</i> LMG 8763	AB161361
<i>Bacillus cacciae</i> Marseille P3604	LT714169	<i>Lysobacter antibioticus</i> DSMZ 2044	AB019582
<i>Bacillus sinesaloumensis</i> Marseille P3516	LT671591	<i>Lysobacter pythonis</i> 4284 11	LM994044
<i>Bacillus dakarensis</i> Marseille P3515	LT671589	<i>Lysobacter maris</i> KMU 14	LC021525
<i>Bacillus marasmi</i> Marseille P3556	LT671590	<i>Lysobacter oryzae</i> YC6269	EU376963
<i>Bacillus dafuensis</i> FJAT 25496	MK934696	<i>Lysobacter humi</i> FJY8	KR698371
<i>Bacillus bingmayongensis</i> FJAT 13831	MK045728	<i>Lysobacter cookii</i> PAGU 1119	AB485771
<i>Bacillus atrophaeus</i> NRRL NRSb213	EU138516	<i>Lysobacter agri</i> THG SKA3	KM576858
<i>Bacillus salinus</i> HMF5848	MH454613	<i>Lysobacter fragariae</i> THG DN8 7	KM035978
<i>Bacillus halotolerans</i> DSM 8802	MN483266	<i>Lysobacter ximonensis</i> XM415	EU237492
<i>Bacillus tuaregi</i> Marseille P2489	LT223701	<i>Lysobacter yangpyeongensis</i> GH19 3	DQ191179
<i>Bacillus rugosus</i> SPB7	MK453326	<i>Lysobacter spongiae</i> 119BY6 57	KY451771
<i>Bacillus aequororis</i> M 8	KC686697	<i>Lysobacter novalis</i> THG PC7	KM658501
<i>Bacillus solitudinis</i> FJAT 45122	KY612312	<i>Lysobacter pedocola</i> IPC6	KT630892
<i>Bacillus radicibacter</i> 53 2	KC847111	<i>Lysobacter arseniciresistens</i> ZS79	HQ315827
<i>Bacillus rubiinfantis</i> mt2	LK021113	<i>Lysobacter cavernae</i> YIM C01544	KT306825
<i>Bacillus ndiopicus</i> FF3	HG315675	<i>Lysobacter olei</i> D 14	KY313413
<i>Bacillus thaonhiensis</i> NHI 38	JQ796719	<i>Lysobacter tolerans</i> UM1	KM888877
<i>Bacillus dielmonensis</i> FF4	HG315676	<i>Lysobacter silvestris</i> AM20 91	KP899165
<i>Bacillus massilioanorexius</i> AP8	JX101689	<i>Lysobacter spongiicola</i> KMM 329	AB299978
<i>Bacillus massilioalgeriensis</i> EB01	HG315679	<i>Lysobacter daejeonensis</i> GH1 9	DQ191178
<i>Bacillus andreraoultii</i> SIT1	LK021120	<i>Lysobacter ruishenii</i> CTN 1	GU086401
<i>Bacillus mediterraneensis</i> Marseille P2384	LT161888	<i>Lysobacter terricola</i> 5GH18 14	KR869779
<i>Bacillus piscis</i> 16MFT21	KX753358	<i>Lysobacter tyrosinolyticus</i> THG DN8 2	KM035980
<i>Bacillus thermoamylorans</i> CNCM I 1378	L27478	<i>Lysobacter zhanggongensis</i> ZGLJ7 1	KT900253
<i>Bacillus capparidis</i> CGMCC 1 12820	MT759869	<i>Lysobacter helvus</i> D10	MF417836
<i>Bacillus phocaeensis</i> SIT16	LN881595	<i>Lysobacter rhizosphaerae</i> THG DN8 3	KM035979

<i>Bacillus weihaiensis</i> Alg07	CP016020	<i>Lysobacter niastensis</i> GH41 7	DQ462462
<i>Bacillus salipaludis</i> W N066	MK627545	<i>Lysobacter chengduensis</i> CF21	KP756904
<i>Bacillus obstructivus</i> VT 16 70	MPHG01000225	<i>Lysobacter tabacisoli</i> C8 1	MF153474
<i>Bacillus massiliigabonensis</i> Marseille P2639	LT598571	<i>Lysobacter firmicutimachus</i> PB 6250	KU593484
<i>Bacillus fonticola</i> CS13	MT359011	<i>Lysobacter panacihumi</i> DCY117	KY996487
<i>Bacillus thermotolerans</i> SGZ 8	MF359551	<i>Lysobacter rhizophilus</i> THG YS3 6	KT962171
<i>Bacillus yapensis</i> XXST 01	MK243676	<i>Lysobacter defluvii</i> IMMIIB APB 9	AM283465
<i>Bacillus dabaoshanensis</i> GSS04	KJ818278	<i>Lysobacter silvisoli</i> zong215	MF630933
<i>Bacillus solimangrovi</i> GH2 4	KC616733	<i>Lysobacter caeni</i> BUT 8	KJ008918
<i>Bacillus borbori</i> DX 4	JX274440	<i>Lysobacter aestuarii</i> S2 C	KT583751
<i>Bacillus zanthoxyli</i> 1433	KX865140	<i>Lysobacter humi</i> THG PC4	KM576857
<i>Bacillus seohaeanensis</i> BH724	AY667495	<i>Lysobacter niabensis</i> GH34 4	DQ462461
<i>Bacillus carboniphilus</i> JCM 9731	AB021182	<i>Lysobacter soli</i> DCY 21	EF623862
<i>Bacillus anthracis</i> ATCC 14578	AB190217	<i>Lysobacter erysipheiresistens</i> RS LYSO 3	KT001243
<i>Bacillus enclensis</i> SGD 1123	KF265350	<i>Lysobacter terrae</i> THG A13	KF483861
<i>Bacillus vanillea</i> XY18	KF986320	<i>Lysobacter xanthus</i> U8	MF417835
<i>Bacillus tropicus</i> MCCC 1A01406	KJ812435	<i>Lysobacter mobilis</i> 9NM 14	JQ608331
<i>Bacillus australimaris</i> MCCC 1A05787	JX680098	<i>Lysobacter segetis</i> 17J68 2	LC434628
<i>Bacillus luti</i> MCCC 1A00359	KJ812415	<i>Lysobacter oculi</i> 83 4	MG822667
<i>Bacillus kexueae</i> Ma50 5	MF582327	<i>Lysobacter alkalisol</i> SJ 36	MK641452
<i>Bacillus decisifrondis</i> E5HC 32	DQ465405	<i>Agromyces humatus</i> CD5	AY618216
<i>Bacillus coahuilensis</i> m4 4	EF014451	<i>Agromyces cavernae</i> SYSU K20354	OK415597
<i>Bacillus fengqiuensis</i> NPK15	KC291653	<i>Agromyces kandeliae</i> Q22	MF116285
<i>Bacillus chungangensis</i> CAU 348	FJ514932	<i>Agromyces agglutinans</i> CFH 90414	MN833072
<i>Bacillus zhangzhouensis</i> MCCC 1A08372	JX680133	<i>Agromyces laixinhei</i> HY052	MH915549
<i>Bacillus taeanensis</i> BH030017	AY603978	<i>Agromyces mariniharenae</i> NEAU 184	MN328030
<i>Bacillus alkalicola</i> Zby6	GU583650	<i>Agromyces subtropicus</i> IY07 56	AB546310
<i>Bacillus alveayuensis</i> TM1	AY605232	<i>Agromyces humi</i> ANK073	LC102386
<i>Bacillus salis</i> ES3	LN827530	<i>Agromyces intestinalis</i> KACC 19306	MN121515
<i>Bacillus mesophilus</i> SA4	KU324461	<i>Agromyces cerinus</i> JCM 9083	D45060
<i>Bacillus alkalisol</i> FJAT 45086	KY612311	<i>Agromyces archimandritae</i> G127ATT	MW175886
<i>Bacillus infernus</i> TH 23	U20385	<i>Agromyces flavus</i> CPCC 202695	FJ529717
<i>Bacillus tianmuensis</i> B5	FJ483934	<i>Agromyces fucosus</i> NBRC 15781	AB842300

<i>Bacillus acidicola</i> 105 2	AF547209	<i>Agromyces badenianii</i> MF 30 A	MH299813
<i>Bacillus svezeyi</i> NRRL B 41294	MRBK01000096	<i>Agromyces aurantiacus</i> YIM 21741	AF389342
<i>Bacillus cabrialesii</i> TE3	MK462260	<i>Agromyces mediolanus</i> DSM 20152	X77449
<i>Bacillus isabeliae</i> CVS 8	AM503357	<i>Agromyces aureus</i> AR33	KU141338
<i>Bacillus ferrooxidans</i> YT 3	KY628809	<i>Agromyces iriomotensis</i> IY07 20	AB546308
<i>Bacillus paranthracis</i> MCCC 1A00395	KJ812420	<i>Agromyces indicus</i> NIO 1018	HM036655
<i>Bacillus gaemokensis</i> BL3 6	FJ416489	<i>Agromyces mangrovi</i> HIR16 25	LC367233
<i>Bacillus tianshenii</i> YIM M13235	KF811034	<i>Agromyces atrinae</i> P27	FJ607310
<i>Bacillus niameyensis</i> SIT3	LK985389	<i>Agromyces terreus</i> DS 10	EF363711
<i>Bacillus albus</i> MCCC 1A02146	KJ812440	<i>Agromyces subbeticus</i> Z33	AY737778
<i>Bacillus marinisedimentorum</i> NC2 31	KX548355	<i>Agromyces insulae</i> CFH S0483	KP232915
<i>Bacillus gobiensis</i> FJAT 4402	KF995513	<i>Agromyces tardus</i> SJ 23	MH342641
<i>Bacillus cheonanensis</i> PFS 5	JQ966280	<i>Agromyces soli</i> MJ21	GQ241325
<i>Bacillus manusensis</i> Ma50 6	MF582328	<i>Agromyces tropicus</i> CM9 9	AB454378
<i>Bacillus pakistanensis</i> NCCP 168	AB618147	<i>Agromyces bauzanensis</i> BZ41	FJ972171
<i>Bacillus paramyoides</i> MCCC 1A04098	KJ812444	<i>Agromyces lapidis</i> CD55	AY618217
<i>Bacillus wiedmannii</i> FSL W8 0169	KU198626	<i>Agromyces bracchium</i> IFO 16238	AB023359
<i>Bacillus glycinifementans</i> GO 13	KT005408	<i>Agromyces neolithicus</i> 23 23	AY507128
<i>Bacillus canaveralius</i> KSC SF8b	DQ870688	<i>Agromyces ulmi</i> XIL01	AY427830
<i>Bacillus thermophilum</i> DX 2	JX274439	<i>Agromyces albus</i> VKM Ac 1800	AF503917
<i>Bacillus ectoiniformans</i> NE 14	KJ461712	<i>Agromyces luteolus</i> IFO 16235	AB023356
<i>Bacillus daqingensis</i> X10 1	HM598403	<i>Agromyces salentinus</i> 20 5	AY507129
<i>Bacillus marcorestinctum</i> LQQ	GQ900516	<i>Agromyces mangrovi</i> Q14	KX170835
<i>Bacillus manliponensis</i> BL4 6	FJ416490	<i>Agromyces rhizosphaerae</i> IFO 16236	AB023357
<i>Bacillus xiapuensis</i> FJAT 46582	KY646144	<i>Agromyces ramosus</i> DSM 43045	X77447
<i>Bacillus mesophilum</i> IIIR 54	JN210567	<i>Agromyces italicus</i> CD1	AY618215
<i>Bacillus haikouensis</i> C 89	KJ868191	<i>Agromyces marinus</i> H23 8	AB847104
<i>Bacillus toyonensis</i> BCT 7112	AJ310100	<i>Agromyces allii</i> UMS 62	DQ673873
<i>Bacillus kwashiorkori</i> SIT6	LK985393	<i>Agromyces protaeiae</i> FW100M 8	MK490987
<i>Bacillus nematocida</i> B 16	AY820954	<i>Burkholderia dolosa</i> LMG 18943	HQ849079
<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613	KY643639	<i>Burkholderia oklahomensis</i> LMG 23618	HQ849092
<i>Bacillus shivajii</i> AK72	LT844662	<i>Burkholderia anthina</i> LMG 20980	HQ849074
<i>Bacillus proteolyticus</i> MCCC 1A00365	KJ812418	<i>Burkholderia plantarii</i> CIP 105769	EU024176

<i>Bacillus coreaensis</i> MS5	JN578481	<i>Burkholderia glumae</i> CIP 106418	EU024181
<i>Bacillus timonensis</i> 10403023	JF824810	<i>Burkholderia alba</i> AD18	MF565845
<i>Bacillus methanolicus</i> NCIMB 13113	AB112727	<i>Burkholderia pseudomallei</i> ATCC 23343	KU749983
<i>Bacillus aeolius</i> 4 1	AJ504797	<i>Burkholderia guangdongensis</i> DHOM02	KP938220
<i>Bacillus nakamurai</i> NRRL B 41091	KU836854	<i>Burkholderia reimsisi</i> BE51	QMFZ01000103
<i>Bacillus infantis</i> SMC 4352 1	AY904032	<i>Burkholderia harporii</i> 4682	JF265202
<i>Bacillus mobilis</i> MCCC 1A05942	KJ812449	<i>Burkholderia pumila</i> BR 2004143571	JN053591
<i>Bacillus haynesii</i> NRRL B 41327	MRBL01000076	<i>Burkholderia mayonis</i> BDU6	CP013386
<i>Bacillus tamaricis</i> EGI 80668	KX685158	<i>Burkholderia brachyanthoides</i> BR 2009044596	JN053524
<i>Bacillus smithii</i> DSM 4216	X60643	<i>Burkholderia contaminans</i> J2956	MH014865
<i>Bacillus salitolerans</i> KC1	KF751884	<i>Burkholderia pyrrocinia</i> ATCC 15958	AB021369
<i>Bacillus alcaliphilum</i> 14B	LT617054	<i>Burkholderia perseverans</i> INN12	KY365423
<i>Bacillus spongiae</i> 135PIL107 10	KY451772	<i>Burkholderia humptydooensis</i> MSMB43	KF981614
<i>Bacillus cytotoxicus</i> NVH 391 98	AM747234	<i>Burkholderia ubonensis</i> EY 3383	AB030584
<i>Bacillus hackensackii</i> 166 1589	AY148429	<i>Burkholderia gladioli</i> CFBP 2427	GU936677
<i>Bacillus lacisalsi</i> YSP 3	MH368361	<i>Burkholderia multivorans</i> LMG 13010	Y18703
<i>Bacillus paralicheniformis</i> KJ 16	KY694465	<i>Burkholderia cepacia</i> ATCC 25416	AF097530
<i>Bacillus pervagus</i> 8 4 E12	HF952773	<i>Burkholderia latens</i> R 5630	KX345793
<i>Bacillus oleivorans</i> JC228	HG799486	<i>Burkholderia catarinensis</i> 89	KR013050
<i>Bacillus horti</i> K13	D87035	<i>Burkholderia stabilis</i> LMG 14294	AF097533
<i>Bacillus oceanii</i> SCSIO 04524	KC160501	<i>Burkholderia vietnamiensis</i> TVV75	MH547402
<i>Bacillus cellulansensis</i> NIO 1130	HQ858013	<i>Burkholderia thailandensis</i> ATCC 700388	EF535235
<i>Bacillus nitratireducens</i> MCCC 1A00732	KJ812430	<i>Burkholderia ambifaria</i> AMMD	AF043302
<i>Bacillus nitroreducens</i> GSS08	KT725236	<i>Burkholderia lata</i> 383	KX345854
<i>Bacillus massiliogorillae</i> G2	JX650055	<i>Burkholderia puraque</i> CAMPA 1040	KX278717
<i>Bacillus songklenensis</i> CAU 1033	JN036548	<i>Burkholderia metallica</i> R 16017	AM747632
<i>Bacillus salacetis</i> SKP7 4	LC367333	<i>Burkholderia mallei</i> ATCC 23344	AF110188
<i>Fictibacillus phosphorivorans</i> CCM 8426	MT760201	<i>Burkholderia territorii</i> LMG 28158	LK023503
<i>Fictibacillus aquaticus</i> GDSW R2A3	KY471632	<i>Burkholderia andongensis</i> SD 1097	JF916921
<i>Fictibacillus nanhaiensis</i> JSM 082006	GU477780	<i>Burkholderia sericanthae</i> SD 1512	JF916923
<i>Fictibacillus barbaricus</i> V2 BIII A2	AJ422145	<i>Burkholderia schumanniana</i> SD1099	HQ849124
<i>Fictibacillus solisalsi</i> YC1	EU046268	<i>Burkholderia paludis</i> MSh1	KT159931

<i>Fictibacillus gelatini</i> LMG 21880	AJ551329	<i>Burkholderia rinojensis</i> A396	KF650996
<i>Fictibacillus arsenicus</i> Con a 3	AJ606700	<i>Burkholderia seminalis</i> R 24196	AM747631
<i>Fictibacillus enclensis</i> NIO 1003	JF893461	<i>Burkholderia diffusa</i> R 15930	AM747629
<i>Fictibacillus halophilus</i> AS8	KP265300	<i>Burkholderia singularis</i> LMG 28154	LK023501
<i>Fictibacillus rigui</i> WPCB074	EU939689	<i>Burkholderia arboris</i> R 24201	AM747630
<i>Fictibacillus iocasae</i> S 38	KY773222	<i>Burkholderia cenocepacia</i> LMG 16656	AF148556
<i>Fictibacillus macauensis</i> ZFHKF 1	AY373018	<i>Burkholderia rubiacearum</i> 19750521	AY277698
<i>Mesobacillus hareniae</i> Y40	KU601247	<i>Burkholderia pseudomultivorans</i> LMG 26883	HE962386
<i>Mesobacillus boroniphilus</i> T 15Z	AB198719	<i>Burkholderia stagnalis</i> LMG 28156	LK023502
<i>Mesobacillus campisalis</i> SA2 6	AB859673	<i>Paraburkholderia dinghuensis</i> DHOA04	KP938222
<i>Mesobacillus subterraneus</i> COOI3B	AY672638	<i>Paraburkholderia ribeironis</i> STM 7296	LN875221
<i>Mesobacillus thioparans</i> BMP 1	DQ371431	<i>Paraburkholderia monticola</i> JC2948	KF155692
<i>Mesobacillus persicus</i> B48	HQ433471	<i>Paraburkholderia megapolitana</i> LMG 23650	AM489502
<i>Mesobacillus rigidiprofundii</i> 1MBB1	KJ630837	<i>Paraburkholderia graminis</i> CIP 106649	EU024154
<i>Mesobacillus aurantius</i> JC1013	LS998022	<i>Paraburkholderia eburnea</i> RR11	JQ692176
<i>Mesobacillus maritimus</i> KS16 9	KP317497	<i>Paraburkholderia phenazinium</i> ATCC 33666	AB021394
<i>Mesobacillus stamsii</i> BoGlc83	AY189804	<i>Paraburkholderia jirisanensis</i> JRM2 1	KJ601731
<i>Mesobacillus zeae</i> JJ 247	KY114944	<i>Paraburkholderia phosphatilytica</i> 7QSK02	MH393406
<i>Mesobacillus jeotgali</i> YKJ 10	AF221061	<i>Paraburkholderia caballeronis</i> TN 841	EF139186
<i>Mesobacillus selenatarsenatis</i> SF 1	AB262082	<i>Paraburkholderia peleae</i> PP52 1	JF763849
<i>Mesobacillus fermenti</i> Bf 1	LC197810	<i>Paraburkholderia rhynchosiae</i> WSM3937	EU219865
<i>Mesobacillus foraminis</i> CV53	AJ717382	<i>Paraburkholderia sediminicola</i> HU2 65W	EU035613
<i>Neobacillus endophyticus</i> BRMEA1	MT501786	<i>Paraburkholderia panacihumi</i> D CY115	KY694400
<i>Neobacillus vireti</i> NBRC 102452	AB681794	<i>Paraburkholderia_madseniana_RP11_</i>	MN239497
<i>Neobacillus niaci</i> NBRC 15566	AB680904	<i>Sphingobium olei</i> IMMB HF 1	AM489507
<i>Neobacillus massiliamazoniensis</i> LF1	LK021124	<i>Sphingobium psychrophilum</i> AR 3 1	MN685322
<i>Neobacillus bataviensis</i> NBRC 102449	AB681791	<i>Sphingobium yanoikuya</i> Gifu 9882	D16145
<i>Neobacillus drentensis</i> NBRC 102427	AB681783	<i>Sphingobium cloacae</i> S 3	AB040739
<i>Neobacillus novalis</i> NBRC 102450	AB681792	<i>Sphingobium quisquiliarum</i> P25	EU781657
<i>Neobacillus fumarioli</i> LMG 17489	AJ250056	<i>Sphingobium chungbukense</i> DJ77	AF159257
<i>Neobacillus jeddahensis</i> JCE	HG931339	<i>Sphingobium limneticum</i> 301	JN591313
<i>Neobacillus paridis</i> YIM B02564	MW911620	<i>Sphingobium amiense</i> YT	AB047364
<i>Neobacillus sedimentimangrovi</i> FJAT 2464	MN963926	<i>Sphingobium abikonense</i> IAM 12404	AB021416

<i>Neobacillus piezotolerans</i> ylb 04	MG913994	<i>Sphingobium scionense</i> WP01	EU009209
<i>Neobacillus cucumis</i> CCM 8651	MT760229	<i>Sphingobium xenophagum</i> BN6	X94098
<i>Neobacillus pocheonensis</i> Gsoil 420	AB245377	<i>Sphingobium herbicidovorans</i> DSMZ 11019	AB022428
<i>Neobacillus soli</i> LMG 21838	AJ542513	<i>Sphingobium chlorophenolicum</i> ATCC 33790	X87161
<i>Neobacillus notoginsengisoli</i> SYP B691	KP076294	<i>Sphingobium rhizovicinum</i> CC FH12 1	EF465534
<i>Neobacillus ginsengisoli</i> DCY 53	HQ224517	<i>Sphingobium fuliginis</i> CCM 7327	MT758008
<i>Neobacillus thermocopriae</i> SgZ 7	JX113681	<i>Sphingobium aquiterrae</i> SKLS A10	MF980915
<i>Peribacillus muralis</i> LMG 20238	AJ316309	<i>Sphingobium xanthum</i> NL9	KF437579
<i>Peribacillus simplex</i> DSM 1321	X60638	<i>Sphingobium phenoxybenzoativorans</i> SC 3	KP257600
<i>Peribacillus glennii</i> V44 8	X60638	<i>Sphingobium naphthae</i> K 3 6	KX672813
<i>Peribacillus gossypii</i> JM 267	KT240114	<i>Sphingobium pinisolii</i> ASA28	LC102481
<i>Peribacillus cavernae</i> L5	KT186244	<i>Sphingobium sufflavum</i> HL 25	JQ060960
<i>Peribacillus butanolivorans</i> K9	EF206294	<i>Sphingobium fontiphilum</i> Chen 16 4	HQ667767
<i>Peribacillus huizhouensis</i> GSS03	KJ464756	<i>Sphingobium lactosutens</i> DS20	EU675846
<i>Peribacillus endoradicis</i> CCBAU 05776	GU434676	<i>Sphingobium vermicomposti</i> VC 230	AM998824
<i>Peribacillus loiseleuriae</i> FJAT 27997	KT362910	<i>Sphingobium faniae</i> JZ 2	FJ373058
<i>Peribacillus deserti</i> ZLD 8	GQ465041	<i>Sphingobium terrigena</i> EO9	MG745378
<i>Peribacillus acanthi</i> L28	MG719555	<i>Sphingobium qiguonii</i> X23	EU095328
<i>Peribacillus massiliiglaciei</i> P2600	LT223699	<i>Sphingobium indicum</i> B90A	AY519129
<i>Peribacillus alkalitolerans</i> T3 209	KM077161	<i>Sphingobium aromaticiconvertens</i> DSM 12677	AM181012
<i>Peribacillus saganii</i> V47 23a	KT720344	<i>Sphingobium algorifonticola</i> TLA 22	LT882720
<i>Peribacillus faecalis</i> AGMB 02131	MW009695	<i>Sphingobium jiangsuense</i> BA 3	HM748834
<i>Peribacillus psychrosaccharolyticus</i> ATCC 23296	X60635	<i>Sphingobium vulgare</i> HU1 GD12	FJ177535
<i>Peribacillus kribbensis</i> BT080	DQ280367	<i>Sphingobium boeckii</i> 469	JN591315
<i>Peribacillus asahii</i> MA001	AB109209	<i>Sphingobium mellinum</i> WI4	KF437546
<i>Cellulosimicrobium arenosum</i> CAU1455	MG214548	<i>Sphingobium endophyticum</i> GZGR 4	KF551123
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i> DSMZ 43879	X79455	<i>Sphingobium subterraneum</i> S II 13	FJ796422
<i>Cellulosimicrobium funkei</i> W6122	MH806391	<i>Sphingobium wenxiniae</i> JZ 1	FJ686047
<i>Cellulosimicrobium terreum</i> DS 61	EF076760	<i>Sphingobium cupriresistens</i> CU4	JQ046313
<i>Cellulosimicrobium marinum</i> RS 7 4	LC042213	<i>Sphingobium tyrosinilyticum</i> MAH 12	KY964278
<i>Cellulosimicrobium protaeaiae</i> BI34	MK966391	<i>Sphingobium ummariense</i> RL 3	EF207155
<i>Cellulosimicrobium composti</i> BIT GX5	MN698721	<i>Sphingobium aromaticivastans</i> UCM 25	KU052683

<i>Cupriavidus agavae</i> ASC 9842	HQ914245	<i>Sphingobium chungangianum</i> MAH 11	MH553056
<i>Cupriavidus yeoncheonensis</i> DCY 86	KF915797	<i>Sphingobium soli</i> THG SQA7	KM598233
<i>Cupriavidus cauae</i> MKL 01	MN453488	<i>Sphingobium baderi</i> LL03	JN695620
<i>Cupriavidus gilardii</i> LMG 5886	AF076645	<i>Sphingobium estronivorans</i> AXB	KM925003
<i>Cupriavidus taiwanensis</i> LMG 19424	AF300324	<i>Sphingobium bisphenolivorans</i> YL23	KU997640
<i>Cupriavidus metallidurans</i> CH 34	Y10824	<i>Sphingobium fluviale</i> CHR27	MG597187
<i>Cupriavidus basilensis</i> DSM 11853	AF312022	<i>Sinorhizobium alkalisoli</i> YIC 4027	KX668272
<i>Cupriavidus numazuensis</i> TE26	AB104447	<i>Sinorhizobium chiapanecum</i> ITTG S70	EU286550
<i>Cupriavidus oxalaticus</i> DSM 1105	AF155567	<i>Sinorhizobium americanus</i> CFNEI 156	AF506513
<i>Cupriavidus respiraculi</i> AU3313	AF500583	<i>Sinorhizobium arboris</i> HAMBI 1552	Z78204
<i>Cupriavidus lacunae</i> S23	MG745916	<i>Sinorhizobium fredii</i> ATCC 35423	D14516
<i>Cupriavidus pampae</i> CPDB6	FN430567	<i>Sinorhizobium kostiensis</i> HAMBI 1489	Z78203
<i>Cupriavidus campinensis</i> WS2	AF312020	<i>Sinorhizobium sojae</i> CCBAU 05684	GU593061
<i>Cupriavidus plantarum</i> ASC 64	HQ438086	<i>Sinorhizobium meliloti</i> IAM 12611	D14509
<i>Cupriavidus malaysiensis</i> USMAA1020	DQ351699	<i>Paenibacillus ihuae</i> GD6	JX424768
<i>Cupriavidus laharis</i> 1263a	AB054961	<i>Paenibacillus taihuensis</i> THMBG22	JQ398861
<i>Cupriavidus necator</i> ATCC 43291	AF191737	<i>Paenibacillus xanthanilyticus</i> AS7	KT429627
<i>Cupriavidus nantongensis</i> X1	KU168038	<i>Paenibacillus mellifer</i> M BLB2552	OL468736
<i>Cupriavidus pauculus</i> CIP 105943	EU024165	<i>Paenibacillus allorhizoplaiae</i> JJ 42	OP023150
<i>Cupriavidus alkaliphilus</i> ASC 732	HQ438078	<i>Paenibacillus humicus</i> NBRC 102415	AB681771
<i>Cupriavidus pinatubonensis</i> 1245	AB121221	<i>Paenibacillus oleatilyticus</i> S M69	MN174065
<i>Enterobacter quasihormaechei</i> WCHEs120003	MK567958	<i>Paenibacillus pasadenensis</i> NBRC 101214	AB681404
<i>Enterobacter wuhouensis</i> WCHEs120002	MK567957	<i>Paenibacillus anseongense</i> MAH 34	MK204997
<i>Enterobacter quasirorogenkampii</i> WCHECL1060	LFDQ02000002	<i>Paenibacillus tianmuensis</i> B 27	FJ719490
<i>Enterobacter vonholyi</i> E13	VTUC01000023	<i>Paenibacillus apii</i> 7124	KX017285
<i>Enterobacter timonensis</i> mt20	LN906632	<i>Paenibacillus tianjinensis</i> TB2019	MW579055
<i>Enterobacter lignolyticus</i> SCF1	CP002272	<i>Paenibacillus sinensis</i> HN 1	MF967304
<i>Enterobacter hormaechei</i> CIP 103441	AJ508302	<i>Paenibacillus faecalis</i> Marseille P3787	LT984639
<i>Enterobacter cancerogenus</i> LMG 2693	Z96078	<i>Paenibacillus solani</i> FJAT 22460	KM978206
<i>Enterobacter asburiae</i> JCM 6051	AB004744	<i>Paenibacillus glabrata</i> 2EI	KF801672
<i>Enterobacter kobei</i> JCM 8580	AB616140	<i>Paenibacillus sambharensis</i> SMB1	LT161878
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	AJ251469	<i>Paenibacillus albulavus</i> 18JY21 1	MH588261
<i>Enterobacter mori</i> LMG 25706	MG846019	<i>Paenibacillus lycopersici</i> 12200R 189	MN998571

<i>Enterobacter ludwigii</i> EN 119	AJ853891	<i>Paenibacillus arenosi</i> CAU 1 523	MN097941
<i>Enterobacter oligotrophicus</i> CCA6	LC368255	<i>Paenibacillus caui</i> 81 11	MZ994649
<i>Enterobacter rogenkampii</i> DSM 16690	CP017184	<i>Paenibacillus albicereus</i> U niB2	MK751590
<i>Enterobacter chengduensis</i> WCHEC1 C4	KY979142	<i>Paenibacillus solisilvae</i> LAAM7113	MF784349
<i>Enterobacter huaxiensis</i> 90008	MK049964	<i>Paenibacillus puerhi</i> SJY2	MN014063
<i>Enterobacter sichuanensis</i> WCHECL1597	MG832788	<i>Paenibacillus silvestris</i> 5J 6	MN381952
<i>Enterobacter chuandaensis</i> 90028	MK049966	<i>Paenibacillus camerounensis</i> G4	JX650057
<i>Enterobacter hormaechei</i> subsp <i>oharae</i> EN 314	AJ853889	<i>Paenibacillus tyrfis</i> MSt1	KT216503
<i>Enterobacter soli</i> LF7	GU814270	<i>Paenibacillus lutrae</i> N10	MG831947
<i>Enterobacter bugandensis</i> 247BMC	HQ122932	<i>Paenibacillus antibioticophila</i> GD11	KC158472
<i>Enterobacter siamensis</i> C2361	HQ888848	<i>Paenibacillus oceanii</i> IB182363	MN911320
<i>Enterobacter hormaechei</i> subsp <i>hoffmannii</i> DSM 14563	CP017186	<i>Paenibacillus humi</i> J30 4	JQ966213
<i>Isoptericola sediminis</i> JC619	JABFAJ01000000 3	<i>Paenibacillus marinum</i> THE 22	FR865169
<i>Isoptericola jiangsuensis</i> CLG	EU852101	<i>Paenibacillus artemisiicola</i> MWE 103	JQ723725
<i>Isoptericola_halalbus_CFH_91151_</i>	MN795759	<i>Paenibacillus psychroresistens</i> ML311 T8	KT933802
<i>Isoptericola salitolerans</i> TRM F109	KY034370	<i>Paenibacillus monticola</i> LC T2	OK058271
<i>Isoptericola cucumis</i> AP 38	KU201961	<i>Paenibacillus hordei</i> RH N24 T	MH071138
<i>Isoptericola variabilis</i> MX5	AJ298873	<i>Paenibacillus filicis</i> S4	KR051056
<i>Isoptericola hypogaeus</i> HKI 0342	AJ854061	<i>Paenibacillus lignilyticus</i> DLE 14	JQ723703
<i>Isoptericola halotolerans</i> YIM 70177	AY789835	<i>Paenibacillus dokdonensis</i> YH JAE5	KX025137
<i>Isoptericola chiayiensis</i> 06182M 1	FJ469988	<i>Paenibacillus algicola</i> HB172198	MG994973
<i>Isoptericola rhizophila</i> BKS 3 46	KC608148	<i>Paenibacillus chartarius</i> CCM 7759	MT760175
<i>Isoptericola dokdonensis</i> DS 3	DQ387860	<i>Paenibacillus aurantiacus</i> TISTR 2452	MT760661
<i>Isoptericola nanjingensis</i> H17	HQ222356	<i>Paenibacillus sepulcri</i> CCM 7311	MT760130
<i>Paenarthrobacter aurescens</i> DSM 20116	X83405	<i>Paenibacillus kyungheensis</i> DCY 88	KF793934
<i>Paenarthrobacter histidinolovorans</i> DSM 20115	X83406	<i>Paenibacillus ginsengihumi</i> DCY 16	EF452662
<i>Paenarthrobacter ilicis</i> DSMZ 20138	X83407	<i>Paenibacillus rubinfantis</i> MT18	LN881603
<i>Paenarthrobacter nicotinovorans</i> DSM 420	X80743	<i>Paenibacillus bouchesdurhonensis</i> Marseille P3071	LT598550
<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2 1	AJ512504	<i>Paenibacillus senegalimassiliensis</i> SIT18	LN890284
<i>Paenarthrobacter ureafaciens</i> DSM 20126	X80744	<i>Paenibacillus tuaregi</i> Marseille P2472	LT223571
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 13525 NZ	LT907842	<i>Paenibacillus turpanensis</i> YIM B00363	MT032315
<i>Pseudomonas putida</i> IAM1236	D84020	<i>Paenibacillus allorhizosphaerae</i> JJ 447	MZ352766

<i>Pseudomonas syringae</i> NCPPB281	DQ318866	<i>Paenibacillus massiliensis</i> subsp. <i>panacisoli</i> Gsoil 1411	AB245384
<i>Pseudomonas lutea</i> OK2	AY364537	<i>Paenibacillus tengchongensis</i> SYSU G 01003	MN595123
<i>Pseudomonas rhizosphaerae</i> LMG21640	AY152673	<i>Paenibacillus piscarius</i> P121	JF892726
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50071	HE978271	<i>Paenibacillus agri</i> JW14	MT233330
<i>Pseudomonas oleovorans</i> IAM1508	D84018	<i>Paenibacillus glycansilyticus</i> subsp. <i>hiroshimensis</i> CCI5	LC589702
<i>Pseudomonas stutzeri</i> ATCC 17588	AF094748	<i>Paenibacillus cymbidii</i> R196	KP325073
<i>Pseudomonas anguilliseptica</i> NCIMB1949	X99540	<i>Paenibacillus plantarum</i> LMG 31461	MT105337
<i>Pseudomonas luteola</i> IAM13000	D84002	<i>Paenibacillus roseus</i> MAHUQ 46	MK680121
<i>Pseudomonas koreensis</i> Ps 9 14 NR	25228	<i>Paenibacillus germinis</i> LMG 31460	MT105333
<i>Pseudomonas jessenii</i> CIP 105274 NR	24918	<i>Paenibacillus planticola</i> LMG 31457	MT105336
<i>Pseudomonas fragi</i> ATCC 4973	AF094733	<i>Paenibacillus phytohabitans</i> LMG 31459	MT105334
<i>Pseudomonas gessardii</i> CIP 105469 NR	24928	<i>Paenibacillus glycincis</i> T1	MT318143
<i>Pseudomonas corrugata</i> NCPPB 2445	LN849842	<i>Paenibacillus phytorum</i> LMG 31458	MT105335
<i>Pseudomonas asplenii</i> ATCC 23835	AB021397	<i>Paenibacillus foliorum</i> LMG 31456	MT105338
<i>Pseudomonas agarici</i> LMG2112	Z76652	<i>Paenibacillus sediminis</i> GTH 3	GQ355277
<i>Pseudomonas moraviensis</i> CCM 7280	AY970952	<i>Paenibacillus siamensis</i> S5 3	AB295645
<i>Pseudomonas straminea</i> IAM1598	D84023	<i>Paenibacillus ehimensis</i> IFO 15659	AB021184
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> DSM 50083	Z76673	<i>Paenibacillus apiarius</i> DSM 5581	AB073201
<i>Pseudomonas pertucinogena</i> NBRC 14163 NR	113650	<i>Paenibacillus thailandensis</i> S3 4A	AB265205
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i> IAM1568	D84004	<i>Paenibacillus rhizovicinus</i> 14171R 81	MN998546
<i>Pseudomonas paralactis</i> DSM 29164	KP756921	<i>Paenibacillus turicensis</i> MOL722	AF378694
<i>Pseudomonas canadensis</i> 2 92	HQ403142	<i>Paenibacillus pabuli</i> NRRL NRS 924	AB045094
<i>Pseudomonas extremaustralis</i> CT14 3	AJ583501	<i>Sporosarcina limicola</i> DSM 13886	AJ292316
<i>Pseudomonas endophytica</i> BSTT44	LN624760	<i>Sporosarcina beigongshangi</i> REN13	MW187778
<i>Pseudomonas helleri</i> DSM 29165	KP738715	<i>Sporosarcina thermotolerans</i> CCUG 53480	FN298445
<i>Pseudomonas versuta</i> L10 10	KX714290	<i>Sporosarcina koreensis</i> F73	DQ073393
<i>Pseudomonas weihenstephanensis</i> DSM 29166	KP738720	<i>Sporosarcina soli</i> I80	DQ073394
<i>Pseudomonas arsenicoxydans</i> VC 1	FN645213	<i>Sporosarcina contaminans</i> CCUG 53915	FN298444
<i>Pseudomonas helmanticensis</i> OHA11	HG940537	<i>Sporosarcina jiandibaonis</i> LAM9210	MG645384
<i>Pseudomonas baetica</i> a390	FM201274	<i>Sporosarcina ginsengisoli</i> CR5	HQ331532
<i>Pseudomonas kribbensis</i> 46 2	KT321658	<i>Sporosarcina luteola</i> Y1	AB473560
<i>Pseudomonas saponiphila</i> DSM 9751	FM208264	<i>Sporosarcina aquimarina</i> DSM 14554	HM245317

<i>Pseudomonas caspiana</i> FBF102	HG805773	<i>Sporosarcina psychrophila</i> IAM 12468	D16277
<i>Pseudomonas asturiensis</i> LPPA 221	FM865870	<i>Sporosarcina saremensis</i> HG645	AB243859
<i>Pseudomonas cerasi</i> 58	KX354897	<i>Sporosarcina ureae</i> DSM 2281	AF202057
<i>Pseudomonas wadenswilerensis</i> CCOS 864	LT009706	<i>Sporosarcina siberiensis</i> 1111S 42	KF258678
<i>Pseudomonas donghuensis</i> HYS	AJJP01000212	<i>Sporosarcina newyorkensis</i> 6062	GU994085
<i>Pseudomonas alkylphenolica</i> KL28	AY324319	<i>Sporosarcina pasteurii</i> NCIMB 8841	X60631
<i>Pseudomonas reidholzensis</i> CCOS 865	LT009707	<i>Sporosarcina terrae</i> LZ2	KT781676