UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA BIOTECNOLOGÍA

Tema: Uso de suelos supresivos como tratamiento biológico para controlar la infección de mildiu (*Peronospora variabilis* Gaum.) en el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.)

Informa Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingenieras Biotecnólogas, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autoras: Leslie Nicole Narvaez Quilligana

Dayana Abigail Tapia Chicaiza

Tutor: Mg. Manoella Alejandra Sánchez Gárnica

Ambato – Ecuador

Julio - 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Gárnica

CERTIFICA

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 20 de junio del 2025

Firmado electrónicamente por:
MANOELLA ALEJANDRA SANCHEZ GARNICA
Validar únicamente con FirmaEC

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Gárnica

1757181209

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotras, Leslie Nicole Narvaez Quilligana y Dayana Abigail Tapia Chicaiza, manifestamos que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingenieras Biotecnólogas son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliografía.



Leslie Nicole Narvaez Quilligana

1850541911

AUTORA



Dayana Abigail Tapia Chicaiza

0550613681

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizamos a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedemos los Derechos en línea patrimoniales de nuestro Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además aprobamos la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando nuestros derechos de autor.





---------- ----------

Leslie Nicole Narvaez Quilligana
1850541911
AUTORA

Dayana Abigail Tapia Chicaiza
0550613681
AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informa Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Firmado electrónicamente por:
MANUEL ISRAEL GUANOQUIZA RIVERA
Validar únicamente con FirmaEC

Presidente del Tribunal

Firmado electrónicamente por:
MARIA DANIELA GARCES MONCAYO
Validar únicamente con FirmaEC

Mg. María Daniela Garces Moncayo
1803571587

Firmado electrónicamente por:
ALEXANDRA VIRGINIA LASCANO SUMBANA
Validar únicamente con FirmaEC

Mg. Alexandra Virginia Lascano Sumbana
1803338175

Ambato, 30 de junio de 2025

DEDICATORIA

A quienes han sido mi raíz, mi impulso y mi refugio.

A mis padres, Ángel y Rocío, porque su amor fue el cimiento sobre el que levanté este camino. Por sostenerme sin apurarme, por creer en mí incluso cuando yo dudaba. Por abrazar mis pausas con ternura y celebrar cada avance como si fuera propio. Los amo papitos

A Isaita y Danita, mis hermanos, que con solo existir me recordaron la belleza de continuar. Sus sonrisas fueron abrigo y su amor, una certeza en medio de la duda.

A mi mamita Marlene, que, aunque ahora habita el cielo, fue presencia constante en mi alma. En cada momento difícil la sentí cerca, cuidándome como siempre lo hizo, con amor silencioso y eterno.

A José, por caminar a mi lado con firmeza y cariño. Por ser pausa, compañía y aliento cuando más lo necesité.

A mis tíos Dennis, Ignacio y Geoconda, por ser parte de esta historia con su afecto discreto, pero siempre presente.

A Geova y Monchito, por traer luz en los días cansados. En su cariño encontré un respiro que no sabía que necesitaba.

A mis amigos Pepos, ellos que llegaron para quedarse. Gracias por ser hogar, aún lejos de casa.

Este trabajo es la suma de todas esas presencias que, con amor, hicieron de lo difícil algo posible. Dedico estas páginas a quienes me acompañaron con el alma, sin necesidad de grandes gestos, solo con estar.

Con cariño Less ♥

DEDICATORIA

A mi amada mami, luz inagotable que ha alumbrado cada madrugada de estudio. Tu abrazo, aunque a veces solo imaginado, me sostuvo cuando el cansancio quiso vencerme; tus mensajes de aliento me llenaron de ánimo y esperanza incluso en los días más difíciles. Todo lo que he logrado es gracias a ti, porque eres mi ejemplo de vida, mi inspiración y el motor que me impulsa a seguir adelante. Este logro es tan tuyo como mío, porque tu ejemplo, tus consejos y tu fe en mí han sido mi mayor fortaleza.

A mi hermana, mi cómplice con quien comparto la vida, los secretos y nuestro propio lenguaje. Aunque la distancia nos mantenga en países distintos y solo podamos abrazarnos a través de una pantalla, tu corazón inmenso y nuestra forma tan cuki de entender el mundo me acompañan siempre. Eres ese lazo irrompible, la amiga que la vida me regaló, más que una hermana, eres ese pedacito de hogar que llevo conmigo siempre. Este logro también es por ti, porque has sido mi refugio y mi inspiración en cada paso del camino.

A mi perrita Lucía, mi compañerita de vida, mi hija de cuatro patas y mi consuelo en la distancia. Mi Luchi querida eterna guardiana de mis silencios, que con sus ojos nobles supo convertir el estrés en calma y los días largos en caricias infinitas. Mi pequeña compañerita de vida, has sido mi abrazo silencioso en las noches largas, mi consuelo en los días de cansancio y la alegría que ilumina mis días más grises. No hay mayor ternura que tu recibimiento cuando llego a casa, ni mayor paz que estar contigo al final de una jornada difícil. Eres mi familia, mi refugio y mi alegría constante. Gracias por existir, por acompañarme siempre y por amarme con ese amor tan inmenso y sincero que solo tú puedes dar. Esta meta no sería igual sin ti a mi lado.

A mis peluditos: a Lucas, compañero leal que acompaña a mi mami y me espera cada viernes en la ventana, celebrando mi llegada con alegría desbordante y haciéndome sentir siempre bienvenida en casa. A Chusita, mi gatita inolvidable 🕊️ *fuiste parte de este proceso, con tu amor silencioso y tu ternura en los días de estudio. Siempre te recordaré como ese pedacito de paz y compañía incondicional. Y a mi dulce Ramona, presencia cálida y amorosa que en cada reencuentro convierte el hogar en un lugar más tierno y lleno de vida. Tus gestos, tu ronroneo y tu cariño han sido parte de mi refugio y mi alegría durante todo este camino.* Esta tesis también es para ustedes, mis compañeros peludos, por todo el amor y la felicidad que me han regalado en cada etapa de este viaje.

A todos ustedes, seres de amor puro, les ofrezco este logro. Porque cada palabra escrita nació de su compañía, y cada paso dado llevó la huella de su cariño infinito.

Con Cariño Daya ♥

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía constante, por darme fuerza en los momentos de flaqueza y por abrir caminos donde solo veía obstáculos. Su presencia me sostuvo en los días más difíciles.

A mis padres, Ángel y Rocío, mi profundo agradecimiento por su amor incondicional, por sus sacrificios silenciosos y por enseñarme con su ejemplo que la perseverancia y la fe son capaces de abrir cualquier puerta. Este logro también es suyo.

A mis hermanos Isaías y Danna, por ser mi fuente de inspiración, alegría y fortaleza. En sus miradas y en su cariño encontré siempre el impulso para seguir adelante.

A mi querida mamita Marlene, que desde el cielo sigue acompañándome con su luz. En cada paso sentí su presencia amorosa, y este logro también está dedicado a ella, con todo el amor que me transmitió en vida.

A José, por tu apoyo constante, tu paciencia infinita y tu amor generoso. Gracias por sostenerme en los momentos más duros, por creer en mí cuando más lo necesitaba.

A mi prima Geova y a su pequeño Monchito, por brindarme momentos de alegría y calidez cuando más lo necesitaba. Su cariño fue un alivio en medio del cansancio.

A mi tío Dennis, por su apoyo constante, aun desde la distancia. Sus palabras de aliento y su preocupación sincera me acompañaron siempre.

A mis entrañables amigos Yadi, May, Jenny y Jony, con quienes compartí no solo desvelos y esfuerzos, sino también risas, lágrimas y logros. Gracias por su amistad inquebrantable y por estar presentes en cada etapa de este camino.

A mi tutora Ale, gracias infinitas por su guía cercana, su paciencia incansable y su acompañamiento constante durante todo este proceso. Su compromiso, su apoyo en cada etapa y sus palabras siempre motivadoras hicieron la diferencia en momentos de duda y cansancio. Más que una tutora, fue una mentora generosa y humana, que supo sostenernos con firmeza y cariño..

Y a Daya, mi amiga de tesis, por su compromiso y buena disposición en cada etapa de este trabajo. Gracias por compartir este desafío conmigo.

A las ingenieras María Daniela, Isa y Samy por su invaluable apoyo, paciencia y disposición durante todos estos meses. Su acompañamiento constante, sus consejos oportunos y la confianza que depositaron en nosotras fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo. Más allá de su rol docente, demostraron una calidad humana que hizo de este proceso una experiencia más llevadera, enriquecedora y motivadora..

A cada uno de ustedes, gracias por ser parte esencial de esta travesía. Este trabajo es reflejo del amor, la compañía y el apoyo que me brindaron. Nunca caminaron detrás ni delante de mí, sino siempre a mi lado.

Att: Less ♥

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por ser mi guía y fortaleza en todo momento. "Todo lo puedo en Cristo que me fortalece" (Filipenses 4:13). Sin su luz y su amor, este logro no habría sido posible.

A mi mamá, que nunca me hizo dudar de que podía lograr todo lo que soñaba, incluso cuando la vida nos puso desafíos y tuvo que sacarnos adelante sola a mi hermana y a mí. Mami llenaste mi vida de amor, fuerza, fe y esperanza, aun cuando la distancia y el cansancio nos hacían difícil el día a día. Tus mensajes de aliento, tu ejemplo de trabajo y tu alegría hicieron de cada sacrificio un aprendizaje y de cada dificultad una oportunidad para crecer. Quizá nunca te lo he dicho así, pero la persona en la que más deseo convertirme es en ti. Gracias mamita por ser mi guía estos 24 años.

A mi hermanita querida, que desde que éramos niñas ha sido mi compañera de aventuras, mi maestra y mi ejemplo. Gracias por seguir mis pasos, por enseñarme tantas cosas y por ayudarme cuando más lo necesitaba. Aunque hoy nos separan más de 9,000 kilómetros, sigues estando presente en mi vida de mil maneras, acompañándome con tu apoyo, tus consejos y ese cariño que no conoce distancias. Eres y serás siempre mi mejor amiga, mi confidente y la hermana maravillosa con la que la vida me bendijo. Senkiu Icapí

A toda mi familia, en especial a mis abuelitos Tetolitos, por su amor incondicional, sus historias, y el ejemplo de bondad y sabiduría que siempre han compartido conmigo, por ser el corazón de nuestra familia, por sus enseñanzas y por cada muestra de apoyo a lo largo de este camino. A mis queridas tías, Magui, Mayra, Moni, Amparito y a mi tío William, por estar presentes en los momentos importantes, por sus palabras de ánimo y por ese amor familiar que siempre me hace sentir acompañada y comprendida. Cada uno de ustedes ha sido un pilar en mi vida y en este camino, y valoro profundamente la presencia y el ejemplo que me han dado. Llevo con orgullo sus valores y su cariño en cada paso de mi vida.

A mi Jae querida, más que una amiga, mi familia elegida. Compartimos cada paso de la carrera, alegrías, desafíos y desvelos. Tus dulces, tus notitas y tu apoyo incondicional han sido mi fortaleza. Gracias por estar siempre a mi lado y recordarme, con cada gesto, lo mucho que me quieres. Gracias por celebrar cada uno de mis logros con el más puro amor, esta meta también es tuya.

A mi mejor amigo Joe, mi inspiración y mi apoyo desde los 15 años. Contigo he compartido el viaje de crecer, de adolescentes a adultos chiquitos, viviendo cada etapa, cada sueño y cada reto. Eres la persona que mejor me conoce, quien siempre tiene el consejo justo y el abrazo sincero en el momento necesario. Gracias por tu amistad incondicional y por ser parte de cada paso en esta aventura.

A mi querida Karlita, mi mejor amiga aunque quizás nunca te lo haya dicho. Nuestra amistad, que nació en el colegio, se ha fortalecido con los años, y aunque no siempre nos vemos o hablamos con frecuencia, la distancia y el tiempo nunca han cambiado lo que significas para mí. Gracias por ser mi consejera, mi apoyo y por el cariño genuino que siempre me demuestras. Eres una presencia valiosa y constante en mi vida, y agradezco profundamente tenerte como amiga.

A Jhoel, mi ancla y mi refugio en estos años de tanto esfuerzo y aprendizaje. Tu apoyo ha sido el abrazo que me sostiene en los días difíciles. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudaba, por acompañarme con paciencia y ternura, y por hacerme sentir cada día cuánto significo para ti.

A mis Facu amigas, Lili y Dami, por su amistad y compañía a lo largo de la universidad. Gracias por las risas, el apoyo en los momentos difíciles y por compartir conmigo tantas experiencias inolvidables. Su presencia hizo este camino mucho más alegre y llevadero, y me siento muy afortunada de haberlas encontrado en esta etapa tan importante de mi vida.

A mi facu amigo Angel, porque me enseñaste que una verdadera amistad puede comenzar con un simple "hola, ¿cómo te fue en la prueba?" y crecer hasta convertirse en un lazo sincero. Gracias por tu amistad, por los momentos compartidos y por demostrarme que, a veces, las mejores personas llegan a nuestra vida de la manera más sencilla.

A mi tutora de tesis, Ale, por ser ese apoyo incondicional y una fuente constante de inspiración. Gracias por sus palabras llenas de amabilidad, por motivarnos siempre con mensajes que nos animan el corazón y por demostrarnos que el verdadero respeto se gana con cariño, admiración y humanidad, y no con temor. Usted no solo ha sido una guía académica, sino también el corazón de nuestro grupo, la "mamá de los pollitos" que nos cuida y acompaña en cada paso. Este logro también es suyo.

A las ingenieras, Isa y Sami, por acompañarnos con tanta generosidad y siempre estar dispuestas a tendernos una mano. Y a la ingeniera Dani, por su calidez, por aclarar cada duda con amabilidad y por ser esa docente que no solo enseña, sino que también inspira y motiva con su calidad humana. Llevo conmigo el ejemplo y la dedicación de cada una de ustedes en este logro

A mi amiga Less, mi compañera de tesis, por su paciencia, su apoyo incondicional y por estar a mi lado en cada paso de este proceso. Sin ti, nada de esto hubiera sido posible. También te agradezco por adoptarme en tu grupo de amigos, "los pepos", quienes me han recibido con cariño y han sido personas maravillosas conmigo. Llevo en mi corazón cada momento compartido y el apoyo sincero que me han brindado.

A Robin, por su generosidad y apoyo a lo largo de este proceso, incluso a pesar de la distancia y la diferencia de horarios. Gracias por ayudarme y por estar siempre dispuesto a tenderme una mano, convirtiéndote en un valioso apoyo en este camino

A mis queridas roomies, Pao y Marilin, por convertir el lugar donde vivíamos en un verdadero hogar. Gracias por su compañía, su apoyo en los días difíciles y por todos los momentos compartidos que hicieron de esta etapa una experiencia mucho más alegre y especial. Siempre llevaré con cariño los recuerdos y la amistad que construimos juntas.

A todos ustedes, mi gratitud y cariño eternos. Sin su apoyo y compañía, este logro no habría sido posible.

Att: Daya ♥

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN iii
DERECHOS DE AUTOR iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO v
DEDICATORIA vi
DEDICATORIA vii
AGRADECIMIENTO viii
AGRADECIMIENTO ix
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS xi
ÍNDICE DE TABLAS xv
ÍNDICE DE FIGURAS xvi
ÍNDICE DE ANEXOS xvii
RESUMEN EJECUTIVO xix
ABSTRACT xx
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO 1
1.1. Antecedentes investigativos 1
1.1.1. Justificación 1
1.1.2. Peronospora variabilis Gaum 2
1.1.2.1. Clasificación taxonómica 2
1.1.2.2. Características morfológicas y ciclo biológico 3
1.1.2.3. Condiciones ambientales favorables para el desarrollo de *Peronospora variabilis* Gaum 3
1.1.3. Signos y Síntomas de *Peronospora variabilis* Gaum 4
1.1.3.1. Pérdidas económicas asociadas a la enfermedad en la quinua 4

1.1.3.2. Métodos de diagnóstico en campo y laboratorio de *Peronospora variabilis* Gaum..... 5
1.1.4. Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)..... 6
1.1.4.1. Origen..... 6
1.1.4.2. Clasificación taxonómica..... 7
1.1.4.3. Importancia nutricional y económica..... 7
1.1.4.4. Condiciones óptimas de cultivo..... 8
1.1.4.5. Enfermedades comunes en la Quinua..... 9
1.1.5. Tratamiento y soluciones tradicionales de *Peronospora variabilis* Gaum……..... 11
1.1.5.1. Control químico de *Peronospora variabilis* Gaum..... 11
1.1.5.2. Manejo agronómico de *Peronospora variabilis* Gaum..... 11
1.1.5.3. Control Biológico de *Peronospora variabilis* Gaum..... 12
1.1.5.4. Desventajas del uso de químicos en la quinua..... 12
1.1.6. Suelos supresivos..... 12
1.1.6.1. Definición y características principales..... 12
1.1.6.2. Tipos de suelos supresivos en la agricultura..... 13
1.1.6.2.3. Factores que contribuyen a la supresividad del suelo..... 14
1.1.6.2.4. Control biológico..... 15
1.2. Objetivos..... 16
1.2.1. Objetivo General..... 16
1.2.2. Objetivos Específicos..... 16
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA..... 17
1.2. Materiales..... 17
1.3. Métodos..... 19
2.2.1. Determinación de las características fisicoquímicas y microbiológicas de los suelos supresivos..... 19

2.2.1.1. Diseño experimental 19
2.2.1.2. Obtención de muestras de suelo 20
2.2.1.3. Preparación de suelos supresivos 20
2.2.1.4. pH del suelo 21
2.2.1.5. Contenido de carbono y nitrógeno 21
2.2.1.6. Análisis microbiológico 24
2.2.2. Estimación de la capacidad biocontroladora *in vitro* de un bioinsumo elaborado a partir del suelo supresivo contra *Peronospora variabilis* Gaum..... 25
2.2.2.1. Cepas bacterianas y condiciones de cultivo 25
2.2.2.2. Actividad antimicrobiana contra *Peronospora variabilis* Gaum ... 25
2.2.2.3. Evaluación del efecto antagonista in vitro 26
2.2.2.4. Medición de la inhibición..... 26
2.2.3. Análisis del desarrollo de la infección por *Peronospora variabilis* Gaum en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) sembradas en suelos supresivos a nivel de invernadero. 27
2.2.3.1. Aislamiento y purificación del Patógeno 27
2.2.3.2 Siembra de semillas de quinua..... 27
2.2.3.3 Infección de las plántulas de quinua 28
2.2.3.4 Monitoreo del desarrollo de la infección 28
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN 29
3.1. Características fisicoquímicas y microbiológicas de los suelos supresivos. ... 29
3.2. Aislamiento de *P. Variabilis.* 41
3.2 Bioinsumo obtenido a partir de suelo supresivo 42
3.2.2 Capacidad biocontroladora *in vitro* 45
3.2.3 Antagonismo microbiano e inhibición de *P. variabilis* 48
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 54
4.2 Conclusiones 54

4.3 Recomendaciones 55
MATERIALES DE REFERENCIA 56
Referencias bibliográficas 56
ANEXOS 67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Lista de reactivos, material fungible, materiales adicionales y equipos..... 17
Tabla 2 Tratamientos por estudiar 19
Tabla 3 Características fisicoquímicas de las muestras de suelos 29
Tabla 4 Relación C:N 29
Tabla 5 Índices de alfa diversidad para los tipos de suelo..... 35
Tabla 6 ASV con abundancia diferencial en suelos supresivos..... 39
Tabla 7 Porcentaje de inhibición de P. variabilis..... 48
Tabla 8 Mortalidad y supervivencia de las plántulas de quinua según el tipo de tratamiento..... 52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema del ensayo de actividad antagónica..... 26
Figura 2 Contenido de pH de las muestras de suelos..... 30
Figura 3 Contenido de carbono de las muestras de suelos..... 32
Figura 4 Contenido de nitrógeno de las muestras de suelos 34
Figura 5 Métricas de alfa diversidad para los tipos de suelos 36
Figura 6 Abundancias relativas de los filos más abundantes presentes en los suelos supresivos y conductivos 38
Figura 7 Peronospora variabilis 41
Figura 8 Bioinsumo..... 43
Figura 9 Monitoreo del efecto antagonista in vivo del bioinsumo contra P.variablis 45
Figura 10 Monitoreo de la infección in vivo..... 50

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Coordenadas geográficas y datos altimétricos de los sitios de muestreo del suelo 67
Anexo 2 Toma de muestras de los suelos 67
Anexo 3 Plántulas de quinua a nivel de invernadero 68
Anexo 4 Aislamiento y purificación de P. variabilis 69
Anexo 5 Elaboracion del bioinsumo 69
Anexo 6 Controles del efecto antagonista del bioinsumo contra P. variabilis 70
Anexo 7 Monitero de la infección P.variabilis in vivo 71
Anexo 8 Prueba t de Student aplicada para el contenido de pH de las muestras suelos 71
Anexo 9 Prueba t de Student aplicada para el contenido de carbono de las muestras suelos 72
Anexo 10 Prueba t de Student aplicada para el contenido de nitrógeno de las muestras suelos 72
Anexo 11 Lecturas de absorbancia (OD_{600}) de los tres cultivos: TSB 1/10, TSB ½ y YEM 73
Anexo 12 ASV con abundancia diferencial en suelos supresivos 73
Anexo 13 Índice porcentual de supervivencia y mortalidad en plantas de quinua bajo distintos tratamientos de suelo, patógeno y bioinsumo 108
Anexo 14 Porcentaje de germinación de plántulas de quinua bajo distintos tratamientos. 108

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Contenido de Carbono 22
Ecuación 2 Contenido orgánico 22
Ecuación 3 Contenido de nitrógeno 23
Ecuación 4 Área de inhibición 26
Ecuación 5 Porcentaje de inhibición 27

RESUMEN EJECUTIVO

El cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) enfrenta una amenaza significativa por la infección de mildiu (*Peronospora variabilis Gaum.*), capaz de reducir los rendimientos hasta en un noventa por ciento, lo cual representa un serio obstáculo para la seguridad alimentaria en zonas de gran altitud. Ante esta problemática, se propuso el uso de suelos supresivos como tratamiento biológico, ofreciendo una alternativa ecológica y económica frente al uso de fungicidas sintéticos. Para esto se desarrolló un análisis comparativo entre suelos supresivos y conductivos, evaluando sus características fisicoquímicas y microbiológicas, incluyendo análisis metagenómicos para identificar la diversidad microbiana presente. A partir del suelo supresivo se elaboró un bioinsumo que fue evaluado mediante pruebas *in vitro* para determinar su capacidad biocontroladora frente a *P. variabilis*, y posteriormente validado en condiciones de invernadero mediante la inoculación en plantas de quinua. Los resultados revelaron que el suelo supresivo presentó un pH ligeramente más ácido, mayor contenido de materia orgánica y una diversidad microbiana significativamente superior, condiciones que favorecen el establecimiento de microorganismos antagonistas. El bioinsumo elaborado inhibió completamente el crecimiento del patógeno en laboratorio y, en invernadero, las plantas tratadas presentaron una supervivencia del cien por ciento, en contraste con la elevada mortalidad observada en los controles. Lo que se comprobó que el uso de suelos supresivos y bioinsumos derivados, apoyado por el análisis microbiológico con enfoque metagenómico, representa una estrategia efectiva, sostenible y alineada con los principios de la agricultura ecológica para el control del mildiu en quinua.

Palabras clave: quinua, mildiu, suelos supresivos, bioinsumo, metagenómica

ABSTRACT

Quinoa cultivation (*Chenopodium quinoa* Willd.) faces a significant threat from downy mildew infection (*Peronospora variabilis* Gaum.), which can reduce yields by up to 90%, posing a serious obstacle to food security in high-altitude areas. In response to this problem, the use of suppressive soils as a biological treatment was proposed, offering an ecological and economical alternative to the use of synthetic fungicides. To this end, a comparative analysis was developed between suppressive and conductive soils, evaluating their physicochemical and microbiological characteristics, including metagenomic analyses to identify the microbial diversity present. A bio-input was produced from the suppressive soil and evaluated through in vitro tests to determine its biocontrol capacity against *P. variabilis*, and subsequently validated under greenhouse conditions through inoculation in quinoa plants. The results revealed that the suppressive soil had a slightly more acidic pH, higher organic matter content, and significantly higher microbial diversity, conditions that favor the establishment of antagonistic microorganisms. The bioinput completely inhibited the growth of the pathogen in the laboratory, and in the greenhouse, the treated plants had a 100% survival rate, in contrast to the high mortality observed in the controls. This proved that the use of suppressive soils and derived bio-inputs, supported by microbiological analysis with a metagenomic approach, represents an effective, sustainable strategy for controlling mildew in quinoa that is aligned with the principles of organic farming.

Keywords: quinoa, downy mildew, suppressive soils, bio-input, metagenomic.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Justificación

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un cultivo esencial en regiones de altitudes elevadas, gracias a su alto valor nutricional y capacidad de adaptación a climas adversos. Sin embargo, enfrenta serias amenazas, como el mildiu causado por *Peronospora variabilis* Gaum., que puede reducir los rendimientos en un 50% en cultivares tolerantes y hasta en un 90% en los más susceptibles **(Colque-Little et al., 2021).** La infección por mildiu en quinua puede ser provocada por diversas causas, siendo las principales la alta humedad, la facilidad del patógeno para dispersarse mediante esporas y la presencia del reservorio *Chenopodium álbum* **(Kara et al., 2020).** *P. variabilis* no solo infecta los cultivos activos, sino que también tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo y en restos de plantas infectadas, lo que facilita su reaparición en temporadas siguientes **(Chávez-Centeno et al., 2024).** Para controlar esta enfermedad, se suelen emplear fungicidas químicos que elevan los costos de producción y representan riesgos ambientales y de salud al acumularse en el entorno **(Puerto Rodríguez et al., 2014).** Esta situación destaca la necesidad urgente de encontrar métodos de manejo más sostenibles y seguros. Una alternativa natural es el uso de suelos supresivos, que aprovecha microorganismos benéficos para controlar patógenos de forma ecológica y económica.

El objeto de esta investigación es evaluar el uso de suelos supresivos como una estrategia biológica sostenible para controlar el mildiu en el cultivo de quinua, evitando así la dependencia de fungicidas químicos. Estudios recientes han demostrado que los suelos supresivos, ricos en microorganismos benéficos como ciertos hongos y bacterias, pueden limitar naturalmente el crecimiento de patógenos mediante competencia por nutrientes, liberación de compuestos antimicrobianos y creación de condiciones adversas para el mildiu **(Rollano-Peñaloza et al., 2022).** Por ejemplo, un estudio en cultivos de hortalizas mostró que la incorporación de bacterias específicas en suelos propensos a enfermedades redujo significativamente la

incidencia de hongos bajo condiciones de alta humedad, similares a las que favorecen la propagación del mildiu en la quinua **(Lv et al., 2024).** Además, han indicado que el uso de suelos supresivos no solo disminuye los costos de producción al reducir la dependencia de agroquímicos, sino que también mejora la salud del suelo a largo plazo, aportando beneficios a la productividad futura de los cultivos **(Chávez-Centeno et al., 2024).**

Por lo que, considerando los anteriores antecedentes, este estudio propone que el uso de suelos supresivos es una estrategia eficaz para reducir la incidencia del mildiu en el cultivo de quinua, minimizando así la necesidad de fungicidas químicos. Esta investigación se centrará en evaluar la efectividad de estos suelos, que cuentan con microorganismos benéficos capaces de inhibir el crecimiento de *P. variabilis*, esta alternativa proporcionaría un método de control más sostenible, reduciendo los costos de producción y el impacto ambiental de la agricultura de quinua.

1.1.2. Peronospora variabilis Gaum

1.1.2.1. Clasificación taxonómica

Peronospora variabilis Gaum es un oomiceto patógeno perteneciente a la familia Peronosporaceae dentro del orden Peronosporales en el filo Oomycota **(Schoch et al., 2020).** Este microorganismo se clasifica en el reino *Stramenopiles,* y se destaca por su carácter de patógeno obligado, es decir, requiere células vivas del huésped para completar su ciclo de vida, lo que lo convierte en un agente devastador en cultivos susceptibles **(Thines & Choi, 2016).** En cuanto a su clasificación, dentro de los oomicetos, P. *variabilis* se agrupa en la clase *Oomycetes,* que incluye patógenos con características similares, que suelen infectar plantas de gran relevancia agrícola, especialmente en regiones con condiciones húmedas y templadas **(Ramírez Maguiña et al., 2020).**

1.1.2.2. Características morfológicas y ciclo biológico

P. variabilis presenta hifas cenocíticas multinucleadas y esporangióforos ramificados dicotómicamente, que miden entre 240 y 580 µm de longitud. Las esporas son elipsoidales, de color oliváceo con un tinte grisáceo, y poseen una papila apical translúcida. Estas estructuras permiten la identificación del patógeno bajo el microscopio y son fundamentales para su diagnóstico **(Choi et al., 2020)**.

El ciclo biológico incluye fases asexual y sexual. En la fase asexual, los esporangios germinan directamente, formando tubos germinativos que penetran en el tejido foliar. La fase sexual se caracteriza por la formación de oosporas, estructuras de resistencia que pueden sobrevivir en semillas o restos de cultivos anteriores, sirviendo como fuente de inóculo en nuevas temporadas **(Calderón-González et., 2023).**

1.1.2.3. Condiciones ambientales favorables para el desarrollo de *Peronospora variabilis* Gaum

El desarrollo de *P. variabilis*, causante del mildiu velloso en la quinua, está directamente influenciado por condiciones ambientales específicas. Este oomiceto se favorece de temperaturas moderadas, entre 15 °C y 22 °C, y altos niveles de humedad relativa, superiores al 90 %, factores que comúnmente se presentan en las regiones altoandinas durante la temporada de lluvias **(Choi et al., 2020).** La presencia prolongada de agua libre sobre las hojas, proveniente de rocío o lluvias, permite que las esporas germinen y penetren a través de los estomas, facilitando así la infección del hospedero **(Danielsen et al., 2022).** Estas condiciones son especialmente críticas durante las primeras etapas del desarrollo de la planta, cuando el tejido es más susceptible al ataque del patógeno **(Ali et al., 2021).**

Además, las prácticas agrícolas que aumentan la humedad en el dosel del cultivo, como la siembra densa o la falta de poda, favorecen aún más la propagación de la enfermedad. En estas condiciones, *P. variabilis* puede esporular intensamente en el envés de las hojas, aumentando la diseminación a plantas cercanas **(Morales et al., 2021).** Este patógeno también puede sobrevivir como oospora en residuos de cultivos

o en el suelo, activándose nuevamente cuando se restablecen las condiciones climáticas óptimas **(Otazu et al., 2020).** Por esta razón, el manejo efectivo del mildiu en quinua debe incluir medidas como monitoreo climático, rotación de cultivos y empleo de variedades resistentes **(Pérez-Aguilar et al., 2023).**

1.1.3. Signos y Síntomas de *Peronospora variabilis* Gaum

La infección por *P. variabilis* se manifiesta inicialmente en las hojas inferiores de la planta con manchas cloróticas y defoliación posterior, lo cual reduce el área fotosintética y afecta su capacidad productiva. Conforme avanza la enfermedad, las plantas pueden sufrir defoliación prematura, comprometiendo así su capacidad fotosintética y el desarrollo normal del grano, ya que el patógeno puede infectar flores y semillas **(Ramírez Maguiña et al., 2020).** Además, las zonas afectadas en las hojas se decoloran y, a menudo, se vuelven marrones o negras. Este signo es típico en etapas avanzadas de la infección, cuando el mildiu ha impactado severamente la salud de la planta **(Rollano-Peñaloza et al., 2022).**

Se ha revelado la existencia de infecciones sistémicas cuando la infección ocurre en etapas tempranas del desarrollo **(Colque-Little et al., 2021).** En estos casos, además de los síntomas foliares típicos, se observan alteraciones morfológicas como reducción generalizada del crecimiento, distorsión de órganos, y en casos severos, necrosis y muerte de plantas jóvenes.

1.1.3.1. Pérdidas económicas asociadas a la enfermedad en la quinua

Como consecuencia de esto, la presencia de *P. variabilis* ocasiona importantes pérdidas a nivel económico en países y continentes donde la quinua es cultivada, lo que genera reducción del rendimiento entre el 35% y del 99 % en variedades tolerantes y susceptibles, respectivamente. Además, puede propagarse rápidamente en condiciones favorables, afectando extensas áreas de cultivo en poco tiempo si no se implementan medidas de control oportunas **(Aguilar et al., 2020).**

Además del impacto en el rendimiento, la calidad del grano también se ve comprometida. La infección por *P. variabilis* puede disminuir el contenido nutricional de las semillas y afectar su viabilidad, lo que repercute negativamente en su valor comercial y en la confianza de los mercados internacionales. Esto es particularmente preocupante para países exportadores de quinua, donde la reputación del producto en los mercados globales es crucial **(Chavez et al., 2024).**

La presencia de oosporas en las semillas infectadas también plantea desafíos para el comercio internacional. La detección de estas estructuras puede llevar a restricciones comerciales y a la necesidad de implementar medidas de cuarentena, lo que genera costos adicionales para los productores y exportadores.

1.1.3.2. Métodos de diagnóstico en campo y laboratorio de *Peronospora variabilis* Gaum

1.1.3.2.1. Métodos de diagnóstico en campo de *Peronospora variabilis* Gaum

El diagnóstico en campo se basa principalmente en la identificación visual de síntomas y signos asociados con la infección por P. *variabilis*. Los síntomas típicos incluyen manchas cloróticas en el haz de las hojas, que pueden evolucionar a lesiones necróticas, y una esporulación de color gris violeta en el envés. Estas características son indicativas de la presencia del patógeno y permiten una detección rápida en condiciones de campo **(Chavez et al., 2024).**

Sin embargo, la precisión del diagnóstico visual puede verse comprometida por la similitud de los síntomas con los causados por otros patógenos o factores abióticos. Por lo tanto, es recomendable complementar la observación visual con otras técnicas, como el uso de lupas o microscopios portátiles, que permiten una inspección más detallada de las estructuras del patógeno.

1.1.3.2.2. Métodos de diagnóstico en laboratorio de *Peronospora variabilis* Gaum

Los métodos de diagnóstico en laboratorio ofrecen una mayor precisión en la detección de *P. variabilis.* La técnica de PCR basada en sondas de hidrólisis ha demostrado ser altamente sensible y específica para la detección del patógeno en semillas y tejidos vegetales. Esta metodología puede detectar cantidades mínimas de ADN del patógeno, lo que permite una identificación temprana y precisa de la infección **(Testen et al., 2024).**

Además, se ha desarrollado un ensayo de qPCR que incluye un control interno competitivo, lo que mejora la confiabilidad de los resultados. Este ensayo ha sido aplicado con éxito para cuantificar el patógeno en semillas de quinua, proporcionando información valiosa sobre la carga del patógeno y la eficacia de las estrategias de control implementada.

1.1.4. Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

1.1.4.1. Origen

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un pseudocereal andino que ha sido cultivado desde épocas precolombinas en los territorios actualmente comprendidos por Bolivia, Perú, Ecuador y el sur de Colombia. Este cultivo, domesticado hace más de 5.000 años, posee una notable adaptabilidad a distintas condiciones agroclimáticas, lo cual le permite desarrollarse en un amplio rango altitudinal que va desde el nivel del mar hasta aproximadamente los 4.000 m s. n. m. **(Basantes-Morales et al., 2019).**

Durante la colonización española, el cultivo de la quinua fue desplazado por cereales introducidos como el trigo y la cebada, lo que llevó a una disminución en su producción y consumo. Sin embargo, las comunidades indígenas conservaron su cultivo y conocimiento ancestral. En las últimas décadas, la quinua ha ganado reconocimiento mundial por su alto valor nutricional y su adaptabilidad a diversas condiciones agroecológicas, lo que ha impulsado su cultivo en más de 70 países **(Bazile et al., 2022).**

1.1.4.2. Clasificación taxonómica

La quinua pertenece al reino *Plantae*, división *Tracheophyta*, clase *Magnoliopsida*, orden *Caryophyllales*, familia *Amaranthaceae*, subfamilia *Chenopodioideae*, y género Chenopodium, siendo su nombre científico completo *Chenopodium quinoa* Willd. **(Bazile et al., 2021).** Aunque durante mucho tiempo fue incluida en la familia *Chenopodiaceae*, estudios filogenéticos recientes reubicaron este grupo como parte de la familia *Amaranthaceae*, basándose en evidencias moleculares y morfológicas **(Kadereit et al., 2020).** Esta familia incluye también especies como la espinaca (*Spinacia oleracea*) y la remolacha (*Beta vulgaris*), con las que comparte ciertas características fisiológicas y ecológicas.

A diferencia de los cereales tradicionales, la quinua es considerada un pseudocereal, ya que no pertenece a la familia de las gramíneas (*Poaceae*), pero sus semillas se consumen y utilizan de manera similar a los granos **(Mastebroek et al., 2023).** El género *Chenopodium* incluye más de 250 especies, muchas de las cuales tienen importancia agrícola o ecológica. Un rasgo distintivo de *C. quinoa* es la morfología de sus hojas, que recuerda a una huella palmeada, de donde proviene su nombre (del griego *chen* = ganso y *pous* = pie). Además, estudios taxonómicos han revelado una gran diversidad genética dentro de la especie, reflejo de su domesticación en distintas zonas agroecológicas de los Andes **(Zurita-Silva et al., 2022).**

1.1.4.3. Importancia nutricional y económica

Es reconocida mundialmente por su alto valor nutricional, lo que ha llevado a su clasificación como un “superalimento”. A diferencia de otros cereales, contiene todos los aminoácidos esenciales, lo que la convierte en una fuente de proteína completa, ideal para personas con dietas vegetarianas o con restricciones alimenticias **(Nowak et al., 2023).** Además, es rica en minerales como hierro, magnesio, zinc y potasio, así como en vitaminas del complejo B y ácidos grasos insaturados. También es naturalmente libre de gluten, lo que la hace apta para personas con enfermedad celíaca o sensibilidad al gluten **(Tang et al., 2022).** Diversos estudios han mostrado

que su consumo regular puede tener efectos positivos en la salud metabólica, ayudando a controlar el colesterol y el azúcar en sangre, así como mejorando la salud intestinal.

En cuanto a su importancia económica, la quinua se ha consolidado como un cultivo estratégico, especialmente en regiones andinas como Bolivia, Perú y Ecuador, pero también en países no tradicionales como Estados Unidos, Canadá, India y varias naciones de Europa. El auge de la demanda internacional ha abierto nuevas oportunidades comerciales para los pequeños productores andinos, al mismo tiempo que ha generado desafíos relacionados con la sostenibilidad y la conservación de variedades nativas **(Rojas et al., 2021).** A pesar de estos retos, la quinua sigue siendo un cultivo altamente rentable por su adaptabilidad a diferentes condiciones climáticas, incluidos suelos salinos y zonas con sequía o altitudes elevadas. Estas características hacen de la quinua una alternativa viable frente al cambio climático y la inseguridad alimentaria global **(Bazile et al., 2016).**

1.1.4.4. Condiciones óptimas de cultivo

La quinua es un cultivo notable por su adaptabilidad a diversas condiciones agroecológicas, lo que le permite crecer desde el nivel del mar hasta altitudes superiores a los 4.000 m s.n.m. Prefiere suelos bien drenados con un pH entre 6,0 y 8,5, y muestra tolerancia a suelos salinos y de baja fertilidad, características que la hacen adecuada para regiones con limitaciones edáficas y climáticas **(Zurita-Silva et al., 2022).** Aunque puede soportar temperaturas bajas, el rango óptimo para su desarrollo se sitúa entre 15 °C y 20 °C. Las heladas durante la floración pueden afectar negativamente el rendimiento, aunque algunas variedades han desarrollado cierta resistencia a estas condiciones **(Bazile et al., 2021).**

En cuanto a las necesidades hídricas, la quinua es eficiente en el uso del agua y puede tolerar periodos de sequía moderada. Sin embargo, una disponibilidad adecuada de humedad durante las etapas de floración y llenado de grano es crucial para maximizar el rendimiento. Prácticas agronómicas sostenibles, como la rotación de cultivos, el uso de compost y biochar, y una fertilización equilibrada, han demostrado mejorar la productividad y la calidad del grano, especialmente en condiciones de estrés hídrico

(Pulvento et al., 2022). Además, el manejo adecuado de la densidad de siembra y el control de malezas son esenciales para optimizar el crecimiento y minimizar las pérdidas por competencia **(Harty et al., 2023).**

1.1.4.5. Enfermedades comunes en la Quinua

La reciente expansión del cultivo de quinua a nuevas regiones ecológicas ha traído consigo un incremento tanto en la diversidad como en la severidad de enfermedades que la afectan. Entre los principales organismos responsables se encuentran los oomicetos y hongos fitopatógenos, los cuales representan una amenaza considerable para la producción, especialmente en sistemas de cultivo intensivo. Las enfermedades infecciosas no solo comprometen el rendimiento del cultivo, sino que también inciden negativamente en la calidad de la semilla y la estabilidad económica de los pequeños productores **(Beccari et al., 2021).**

Uno de los patógenos más relevantes en este contexto es el oomiceto *Peronospora variabilis* Gäum., causante del mildiú velloso, considerada la enfermedad más importante en la quinua a nivel mundial. Se manifiesta en las hojas con manchas cloróticas en el haz y una capa grisácea afelpada en el envés, generando necrosis progresiva y debilitamiento general de la planta. Su alta capacidad de dispersión y su persistencia en condiciones húmedas han hecho de este patógeno un problema recurrente en países andinos como Ecuador, Perú y Bolivia **(Rollano-Peñaloza et al., 2022).**

Otra enfermedad de alta incidencia es la mancha foliar de la quinua, provocada por especies del género *Ascochyta*, principalmente *A. hyalospora* y *A. chenopodii*. Estas infecciones, inicialmente detectadas en semillas provenientes del altiplano boliviano, provocan lesiones blanquecinas y necrosis tanto en hojas como en tallos **(Testen et al., 2013).** En Ecuador, su presencia fue documentada por primera vez en 2009 con el nombre común de “ojo de gallo”, caracterizada por lesiones redondeadas con un centro oscuro. Más adelante, se identificó a *Cercospora spp.* como otro agente causal de este tipo de manchas, cuyo patrón sintomatológico puede confundirse con el de otras enfermedades foliares **(Peralta, 2009).**

Entre los hongos más agresivos que afectan la parte aérea de la planta también se encuentra *Passalora dubia*, cuyo desarrollo genera lesiones redondeadas u ovaladas de menos de 1 cm de diámetro, de color marrón oscuro o gris negruzco, con bordes rojizos. Estas lesiones afectan la capacidad fotosintética de la planta, favoreciendo su debilitamiento progresivo **(Testen et al., 2013).**

En cuanto a enfermedades que comprometen el tallo y las raíces, destacan varios hongos responsables de la pudrición parda del tallo, entre ellos *Phoma exigua*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum dematium*, *Macrophomina phaseolina*, y especies de *Curvularia*. Esta patología debilita la estructura del tallo, causando marchitez, reducción del crecimiento y eventualmente la muerte de la planta. A su vez, la pudrición de la corona puede ser inducida por patógenos del suelo como *Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* y *Sclerotium sclerotiorum* **(Beccari et al., 2021).**

El marchitamiento también ha sido atribuido a infecciones mixtas, donde dominan especies de *Fusarium*, junto con otros agentes como *Ascochyta rabiei*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *R. solani.* En hojas con clorosis o necrosis se ha logrado aislar una amplia diversidad de hongos, incluyendo *Melanospora zamiae*, *Botryodiplodia theobromae*, *Phoma sorghina* y *Nigrospora oryzae*, entre otros. Por otro lado, la presencia de moho gris, generalmente asociada con condiciones de alta humedad, suele estar relacionada con *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum* **(NEBIE et al., 2024).**

De modo que, el manejo integrado de enfermedades resulta fundamental, e incluye el uso de variedades resistentes, rotación de cultivos, control biológico y prácticas culturales adecuadas para evitar el establecimiento y diseminación de estos patógenos. Además, la identificación precisa de los agentes causales y su biología es crucial para diseñar estrategias de manejo efectivas que garanticen la sostenibilidad del cultivo en los diferentes sistemas de producción **(Beccari et al., 2021).**

1.1.5. Tratamiento y soluciones tradicionales de *Peronospora variabilis* Gaum

1.1.5.1. Control químico de *Peronospora variabilis* Gaum

El mildiú velloso, causado por el oomiceto *Peronospora variabilis*, representa una de las principales amenazas fitosanitarias para el cultivo de quinua, especialmente en regiones con alta humedad. Dentro de los fungicidas más utilizados para el control de enfermedades foliares causadas por oomicetos se encuentran los inhibidores de la síntesis de esteroles, como los inhibidores de la dimetilación (IDM), y compuestos más recientes como los fenilpirroles (PP), que presentan mecanismos de acción específicos sobre la membrana celular fúngica **(Khalifa et al., 2024).**

Uno de los fungicidas más comúnmente empleados para el manejo del mildiu en cultivos como la quinua es el metalaxil (Ridomil®), un compuesto sistémico del grupo de los acilalaninas que inhibe la síntesis de ARN en oomicetos **(Leon et al., 2022).**

1.1.5.2. Manejo agronómico de *Peronospora variabilis* Gaum

El manejo agronómico adecuado es esencial para mitigar el impacto de esta enfermedad y garantizar la sostenibilidad del cultivo. Una estrategia clave en el manejo agronómico es la implementación de prácticas culturales que reduzcan la incidencia y severidad del mildiú velloso. Estas incluyen la rotación de cultivos, el uso de semillas certificadas libres de patógenos, la eliminación de residuos de cultivos infectados y la optimización de la densidad de siembra para mejorar la circulación del aire y reducir la humedad en el dosel de las plantas **(Calderón-González et al., 2023).** El monitoreo constante del cultivo y la implementación de sistemas de alerta temprana son también componentes esenciales del manejo agronómico. La detección oportuna de síntomas permite la aplicación rápida de medidas de control, minimizando la propagación del patógeno **(Taaime et al., 2023).**

1.1.5.3. Control Biológico de *Peronospora variabilis* Gaum

El control químico ha sido una estrategia predominante, sin embargo, el uso excesivo de fungicidas ha generado preocupaciones ambientales y la aparición de cepas resistentes del patógeno. En este contexto, el control biológico surge como una alternativa sostenible y ecológica para el manejo de esta enfermedad **(Bhaik et al., 2022).**

Diversos estudios han explorado el uso de agentes de biocontrol, como bacterias y hongos antagonistas, que pueden inhibir el crecimiento de *P. variabilis* mediante mecanismos como la competencia por nutrientes y espacio, la producción de metabolitos antifúngicos o la inducción de respuestas de defensa en la planta huésped. Por ejemplo, especies del género Trichoderma y bacterias del género Bacillus han mostrado eficacia en el control de oomicetos en otros cultivos, aunque su aplicación específica en quinua aún requiere más evidencia experimental **(Leon et al., 2018).**

1.1.5.4. Desventajas del uso de químicos en la quinua

El uso extensivo de químicos ha generado preocupaciones debido al desarrollo de cepas resistentes, como ha sido reportado en diversas regiones productoras. Además, el uso prolongado e intensivo de estos productos puede generar desequilibrios en los agroecosistemas, afectar organismos benéficos del suelo y contaminar cuerpos de agua cercanos **(Sharma et al., 2019).**

1.1.6. Suelos supresivos

1.1.6.1. Definición y características principales

Los suelos supresivos constituyen un componente fundamental dentro de los ecosistemas agrícolas, debido a su capacidad para limitar o inhibir el desarrollo de enfermedades causadas por patógenos transmitidos por el suelo **(Postma et al., 2008).** Estos suelos forman parte de un ecosistema complejo y dinámico que no solo proporciona nutrientes a todos los organismos vivos, sino que también alberga una

gran diversidad de microbiomas esenciales para el funcionamiento del ecosistema **(Jayaraman et al., 2021).**

Estos suelos se caracterizan por albergar comunidades microbianas altamente diversificadas y funcionales. Estas comunidades poseen rasgos multifacéticos que promueven el crecimiento vegetal y suprimen el desarrollo de enfermedades **(Schlatter et al., 2017).** A diferencia de los suelos convencionales, en los suelos supresivos el desarrollo de enfermedades se mantiene en niveles mínimos, incluso en condiciones que normalmente serían favorables para los patógenos: es decir, en presencia del patógeno en el suelo y de una planta huésped susceptible **(Mendes et al., 2011).**

Este tipo de supresión no implica la erradicación total del patógeno, sino un equilibrio biológico en el que la comunidad microbiana del suelo impide su proliferación y acción patogénica. La capacidad supresiva del suelo puede deberse tanto a sus propiedades físicas y químicas como a sus propiedades biológicas, principalmente mediadas por el microbioma edáfico **Schlatter et al., 2017).**

Una prueba de que la supresión es una propiedad biológica del suelo es que, al esterilizar un suelo supresivo, este pierde su capacidad de controlar enfermedades. Por el contrario, dicha capacidad puede transferirse parcialmente si se mezcla una pequeña cantidad de suelo supresivo con un suelo propicio o no supresor, lo cual demuestra el papel clave del microbioma edáfico en este fenómeno **(Koutika et al., 2008),**

1.1.6.2. Tipos de suelos supresivos en la agricultura

1.1.6.2.1. Suelos supresivos generales

La supresión general de enfermedades es una función colectiva de la comunidad microbiana del suelo, en la que múltiples microorganismos actúan de forma sinérgica para antagonizar y limitar el crecimiento de poblaciones patogénicas **(Chapelle et al., 2016).** A diferencia de la supresión específica, este tipo de supresión no se dirige a un patógeno en particular, sino que constituye una barrera biológica

generalizada, promovida por la competencia por recursos, la producción de metabolitos antimicrobianos y la ocupación de nichos ecológicos por parte de microorganismos beneficiosos **(Lemanceau et al., 2017).**

Esta capacidad supresora general está fuertemente influenciada por las características fisicoquímicas del suelo, tales como la estructura, el contenido de materia orgánica, la humedad y el pH, que en conjunto crean un ambiente favorable para el desarrollo y mantenimiento de comunidades microbianas funcionales y diversas **(Hartmann et al., 2015).**

1.1.6.2.2. Suelos supresivos específicos

Los suelos supresivos específicos se caracterizan por su capacidad de limitar el crecimiento de patógenos específicos mediante interacciones biológicas altamente especializadas. A diferencia de la supresión general, esta forma de control de enfermedades está mediada por poblaciones microbianas específicas que antagonizan directamente al patógeno, estableciendo una interacción antagónica definida **(Kwak & Weller, 2013).**

En estos suelos, determinados microorganismos del suelo, como bacterias del género Pseudomonas, hongos del género Trichoderma, así como especies de *Bacillus* y *Streptomyces*, desempeñan un papel clave mediante diversos mecanismos: la producción de metabolitos antifúngicos o antibacterianos, la competencia específica por nutrientes o sitios de infección en las raíces, la inducción de respuestas de defensa en la planta hospedera, o estrategias de hiperparasitismo, donde el microorganismo benéfico parasita al patógeno **(Lee et al., 2023).**

1.1.6.2.3. Factores que contribuyen a la supresividad del suelo

Los factores biológicos son considerados los más determinantes en la supresividad del suelo. La diversidad, composición y funcionalidad del microbioma del suelo particularmente de bacterias como *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., y actinobacterias como *Streptomyces* sp., así como hongos como *Trichoderma* sp., juegan un papel clave

mediante la producción de compuestos antimicrobianos, competencia por recursos, inducción de defensas sistémicas en la planta y antagonismo directo **(Lee et al., 2023).**

Por otro lado, Las propiedades físicas del suelo, como su textura, estructura, porosidad y capacidad de retención de agua afectan directamente el desarrollo y distribución de la microbiota beneficiosa. Suelos bien estructurados con buena aireación y drenaje tienden a favorecer comunidades microbianas estables y funcionales, lo que contribuye a una mayor supresividad **(Berendsen et al., 2012).**

Las características químicas del suelo, como el pH, contenido de materia orgánica, nivel de nutrientes (N, P, K), y la presencia de compuestos alelopáticos derivados de residuos vegetales, también modulan la actividad microbiana. Por ejemplo, un pH ligeramente ácido o neutro puede favorecer la actividad de ciertos biocontroladores, mientras que un nivel adecuado de materia orgánica estimula la diversidad microbiana y la estabilidad del ecosistema edáfico **(Wang et al., 2019).**

1.1.6.2.4. Control biológico

El uso de microorganismos de biocontrol, como *Bacillus subtilis* o *Trichoderma* spp., ha demostrado ser eficaz en la sustitución de tratamientos químicos por métodos más ecológicos, minimizando los riesgos ambientales y promoviendo la sostenibilidad en los agroecosistemas. Las prácticas de manejo como la rotación de cultivos, el uso de cultivos de cobertura y la aplicación de enmiendas orgánicas pueden mejorar la supresividad de los suelos y potenciar las propiedades de biocontrol mediante el fortalecimiento de la comunidad microbiana **(González-León et al., 2022).**

El biocontrol en suelos supresivos no solo reduce la incidencia de enfermedades, sino que también mejora la salud general del suelo, promueve la biodiversidad microbiana y aumenta la resiliencia de los cultivos frente a diversos estreses bióticos y abióticos. De esta manera, los suelos supresivos contribuyen a la agricultura sostenible al reducir la dependencia de pesticidas y fertilizantes químicos **(Ruano & Mercado, 2015).**

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Analizar el uso de suelos supresivos como tratamiento biológico contra la infección del mildiu (*Peronospora variabilis* Gaum.) en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar las características fisicoquímicas y microbiológicas de los suelos supresivos.

- Estimar la capacidad biocontroladora *in vitro* de un bioinsumo elaborado a partir del suelo supresivo contra *Peronospora variabilis* Gaum.

- Analizar el desarrollo de la infección por *Peronospora variabilis* Gaum. en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) sembradas en suelos supresivos a nivel de invernadero.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

1.2. Materiales

El presente trabajo de titulación fue de tipo experimental, y se realizó en los laboratorios académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. En la Tabla 1 se presenta la lista de reactivos, material fungible, materiales adicionales y equipos empleados que se usaron en el desarrollo de la investigación.

Tabla 1

Lista de reactivos, material fungible, materiales adicionales y equipos.

Reactivos	
Alcohol 70%	4L
Agua destilada	4L
Agua estéril	4L
Hipoclorito de sodio 3%	1L
Tampón PBS	1L
Hidróxido de Sodio	50g
Ácido Sulfúrico	500mL
Solución nutritiva Hoagland	3L
Medio de cultivo PDA	1L
Carbonato de sodio anhidrido	20g
Material Fungible	

Balón de aforo 100 mL	1
Matraz Erlemeyer 250 mL	1
Tubos Eppendorf	10
Tubos de ensayo con tapa rosca	10
Papel filtro	3
Gradilla	1
Placas Petri	100
Papel aluminio	5
Vaso de precipitación 250 mL	10
Probeta volumétrica 100 mL	2
Puntas de micropipetas	30
Vaso de precipitación 50 mL	1
Papel industrial	1
Guantes de Nitrilo	50
Cofias	50
Materiales Adicionales	
Perlita	1
Turba	1
Semillas de Quinua	400
Vasos Plásticos	100
Bandeja de Plástico	2
Cooler	2
Barreno	1
Rotulador	1
Tijeras	2
Equipos	
Balanza analítica	1
pH-metro	1
Mufla	1
Incubadora	1
Balanza de humedad	1
Cámara de flujo laminar	1

Autoclave	1
Estufa	1
Centrifuga	1
Vórtex	1
Cocina	1
Refrigeradora	1
Ultra congelador	1
Centrifuga	1
Cocineta eléctrica	1
Refrigerador	1
Micropipetas (100 – 200 µL, 1000 µL)	3
Espectrofotómetro	1

1.3. Métodos

2.2.1. Determinación de las características fisicoquímicas y microbiológicas de los suelos supresivos.

2.2.1.1. Diseño experimental

En la presente investigación se analizó el efecto biocontrolador de suelos supresivos contra el patógeno Peronospora variabilis Gaum. Se manejaron los tratamientos descritos en la siguiente Tabla 2

Tabla 2

Tratamientos por estudiar

Tratamiento	Combinación
1	Quinua + Con suelo + Infección
2	Quinua + Con suelo – Infección
3	Quinua – Suelo + Infección
4	Quinua – Suelo – Infección

De cada tratamiento se realizó 12 réplicas biológicas y como variables de respuesta se analizó lo siguiente:

Bioinsumo a partir de suelo supresivo

- Actividad antagónica (porcentaje de inhibición)
- Concentración celular

Infección de la planta

- Manchas cloróticas en el haz de las hojas
- Eflorescencias blancas o grisáceas en el envés de las hojas

2.2.1.2. Obtención de muestras de suelo

Las muestras de suelo se recolectaron de forma manual en zonas previamente identificadas como potencialmente supresivas, dentro del cantón Colta en la provincia de Chimborazo. Antes de la recolección, se observó detalladamente el paisaje para identificar diferencias en el terreno, la vegetación presente y la textura del suelo **(Franzluebbers & Haney, 2018).** Los puntos de muestreo fueron registrados con un GPS, en cada punto, las muestras fueron recolectadas mediante una barrena a una profundidad de 5 a 10 cm, ya que a esta profundidad se producirán las comunidades microbianas más abundantes y diversas **(Kremer, 2019).** Las herramientas usadas fueron esterilizadas con alcohol al 70% antes y después de cada uso para evitar contaminaciones. Las muestras se colocaron en fundas con zipper etiquetadas correctamente. Para mantenerlas frescas, se transportaron en un cooler, hasta la ciudad de Ambato – Tungurahua, en el día 0 las muestras de suelo fueron colocadas en bandejas plásticas para el inicio del proceso de secado.

2.2.1.3. Preparación de suelos supresivos

Empleando la metodología descrita por **Brunelle et al., (2020),** las muestras recolectadas fueron preparadas para el análisis fisicoquímico mediate un proceso de secado a temperatura ambiente, con temperaturas controladas entre 20-25 °C, durante 96 horas. Una vez secas, se retiraron manualmente las rocas y restos de plantas. Posteriormente, las muestras secas se trituraron con un mortero y se tamizaron

utilizando un tamiz estándar con un tamaño de malla de ≤ 2 mm. Luego, se tamizaron nuevamente con un tamiz de 1 mm para eliminar la grava. Las submuestras recogidas fueron homogeneizadas manualmente, garantizando una distribución uniforme. Este procedimiento permitió obtener partículas de tamaño uniforme, facilitando su caracterización y posterior uso en los análisis posteriores.

Para el análisis microbiológico, se aplicó la metodología de **Brunelle & Pavlovska et al. (2021),** durante la recolección, el suelo debe ser sacudido suavemente para desprenderlo de las raíces, evitando su secado. Las muestras fueron pasadas rápidamente a través de un tamiz estándar de 5 mm, y posteriormente almacenadas a 4 °C en las fundas con zipper. Estas condiciones permitieron limitar la actividad microbiana sin alterar significativamente la composición de la comunidad microbiana.

2.2.1.4. pH del suelo

Para el análisis del pH del suelo se empleó la siguiente metodología **Chen et al. (2019),** en un vaso de precipitados, se pesó 1.0 g de muestra de suelo y se mezcló con 10 ml de agua desionizada, manteniendo una relación suelo: agua de 1:10. Las lecturas de pH se obtuvieron sumergiendo el electrodo/sonda de vidrio en la solución resultante, registrándose los valores correspondientes.

2.2.1.5. Contenido de carbono y nitrógeno

- **Contenido de carbono**

De acuerdo con la metodología descrita por **Breithaupt et al. (2023),** se prepararon muestras de suelos conductivos y supresivos, las cuales se colocaron en dos bandejas de aluminio y se secaron a 105 °C durante 24 horas para eliminar la humedad. Posteriormente, se pesaron ocho crisoles vacíos (cuatro para suelos supresivos y cuatro para suelos conductivos), registrando su peso individual. En cada crisol se colocaron aproximadamente 5 g de muestra seca, y se anotó el peso total del crisol con la muestra seca (W_1). Para la etapa de calcinación, los crisoles con las muestras fueron introducidos en una mufla a 550 °C durante 4 horas. Finalizado este

periodo, se retiraron con pinzas y se dejaron enfriar en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Finalmente, se pesaron nuevamente y se registró el peso del crisol con las cenizas residuales (W_2).

El contenido de materia orgánica se determinó mediante la pérdida de peso tras la incineración, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Materia orgánica} = \left(\frac{\text{W1} - \text{W2}}{\text{Peso de la muestra (g)}}\right) \times 100$$

Ecuación 1 *Contenido de Carbono*

Donde

W1 = Peso seco

W2 = Peso post-incineración

Posteriormente, el carbono orgánico fue estimado aplicando el factor de conversión propuesto por Van Bemmelen, como se muestra en la ecuación (2):

$$\% \text{ Carbono orgánico} = \left(\frac{\%\text{MO}}{1{,}724}\right)$$

Ecuación 2 Contenido orgánico

- **Contenido de nitrógeno**

Para analizar el contenido de nitrógeno se utilizará la metodología de **Michałowski et al. (2013),** se pesaron aproximadamente 1 g de las muestras de suelos y se colocaron en matraces de digestión. A continuación, se colocó 50 ml de agua en 1g de suelo, se añadieron 3 mL del buffer de boratos y se ajustó el pH a 9,5 con la disolución de hidróxido de sodio 6 mol/L. Después se añadió 1 tabletas de catalizada Kjeldahl en cada matraz, se añadieron perlas de ebullición y se agregaron 10 mL de ácido sulfúrico concentrado al 98% para iniciar la etapa de digestión. La muestra fue homogeneizada suavemente antes de proceder al calentamiento. Los matraces con las

muestras fueron colocados en un bloque de digestión, el proceso siguió hasta que los vapores generados fueron blancos y la mezcla se tornó transparente con un leve color verde, lo cual indicó la finalización de la digestión. Este proceso se realizó en una sorbona y tuvo una duración aproximada de 1 hora 30 min. Posteriormente, las muestras fueron enfriadas a temperatura ambiente.

Para la etapa de destilación, se añadió 50 ml de NaOH para convertir los iones de amonio en amoníaco. Este amoníaco fue extraído mediante destilación por arrastre de vapor y se capturó en un recipiente receptor que contenía 10 ml de una solución de ácido bórico y 3 gotas de indicador mixto compuesto por rojo de metilo y azul de metileno. Este procedimiento aseguró la transformación completa del amonio en amoníaco.

Para la etapa de valoración, se retiró el recipiente y se tituló con disolución de ácido sulfúrico 0,001 mol/L hasta que el indicador en la solución viró de morado oscuro a morado claro. El volumen consumido en la valoración fue registrado, permitiendo el cálculo del contenido de nitrógeno en la muestra de suelo.

$$\%\text{Nitrogeno} = \left(\frac{(\text{A} - \text{B}) \times \text{c} \times 28 \times 1000}{\text{V}}\right)$$

Ecuación 3 *Contenido de nitrógeno*

Donde:

A: Volumen de ácido sulfúrico gastado en la titulación de la muestra en mL

B: Volumen de ácido sulfúrico gastado en la titulación del blanco en mL

c= Concentración de la disolución de ácido sulfúrico expresada en mol/L

V: Volumen de la muestra en mL

28: Peso molecular del nitrógeno

2.2.1.6. Análisis microbiológico

Las muestras de suelo fueron enviadas a la empresa BIOSEQUENCE S.A.S. (Quito, Ecuador), donde se realizó la extracción de ADN y la secuenciación mediante la plataforma Illumina MiSeq con lecturas paired-end. Se amplificó la región V3–V4 del gen 16S ribosomal bacteriano utilizando los primers 341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) y 805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC). Los cebadores fueron eliminados con Cutadapt v5.1. Tras este preprocesamiento, las secuencias resultantes fueron procesadas con el paquete DADA2 versión 1.8.1 **(Callahan et al., 2016).** Se realizo en el software R, generando variantes de secuencia de amplicón (ASVs). La asignación taxonómica se realizó mediante el clasificador Naïve Bayes basado en k-mer, utilizando el paquete MOTHUR **(Schloss et al., 2009).**

Las dos muestras fueron enrarecidas a la profundidad de la muestra con menor número de lecturas (1230 lecturas), mediante submuestreo aleatorio sin reemplazo utilizando la función rarefy_even_depth() del paquete phyloseq **(McMurdie & Holmes, 2013).** Este paso permitió estandarizar la profundidad de secuenciación y facilitar comparaciones equitativas entre los diferentes tipos de suelo.

El análisis estadístico se realizó en RStudio **(R Core Team, 2018).** Se calcularon cinco métricas de diversidad alfa: riqueza observada, Chao1, Shannon, inverso de Simpson y evenness (Shannon/log(richness)), usando exclusivamente el paquete phyloseq. Las gráficas correspondientes fueron generadas con el paquete ggplot2 **(Wickham, 2011),** permitiendo una evaluación visual de las diferencias entre tipos de suelo.

Dado que el experimento incluyó una sola muestra por tipo de suelo, el análisis de abundancia diferencial se realizó de manera descriptiva, calculando el $\log_2$ del cambio de abundancia ($\log_2$ fold change) a partir de los conteos enrarecidos por ASV. No se realizó inferencia estadística debido a la ausencia de réplicas biológicas.

2.2.2. Estimación de la capacidad biocontroladora *in vitro* de un bioinsumo elaborado a partir del suelo supresivo contra *Peronospora variabilis* Gaum.

2.2.2.1. Cepas bacterianas y condiciones de cultivo

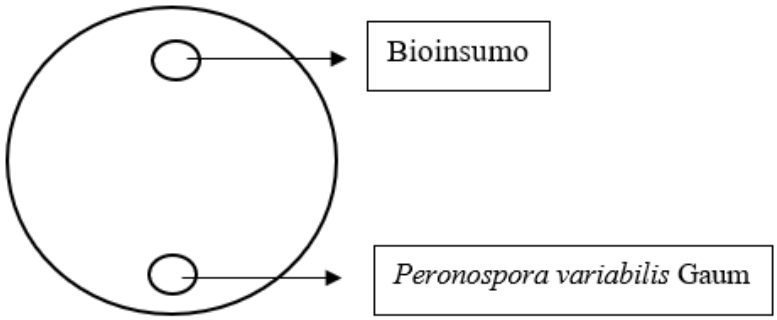
Se mezclaron 10 g de suelo supresivo con 90 mL de solución salina al 0,85 %, se agitaron durante 30 minutos y la suspensión se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se inoculó en el bioinsumo. Para la elaboración del bioinsumo se empleó la metodología **Schmitz et al. (2022),** Las cepas bacterianas se cultivaron en medio de caldo de soja tripsínica (TSB) a 28 °C. Las cepas de crecimiento rápido se cultivaron en TSB 1/10 durante 1 día, mientras que las cepas de crecimiento lento se cultivaron en TSB ½ durante 5 días. Las cepas rizobianas se cultivaron en extracto de levadura manitol (YEM) durante 3-4 días. Los cultivos de cepas individuales se ajustón a una densidad final de $0,5\times10^8$ UFC ml^{-1}. El bioinsumo fue una mezcla equimolar de cepas con una concentración final de 5×10^8 UFC ml^{-1} y cada planta recibirá en total 10^9 células.

2.2.2.2. Actividad antimicrobiana contra *Peronospora variabilis* Gaum

Mediante la metodología establecida por **Bokhari et al. (2019),** se empleó el ensayo de cultivo dual para evaluar la actividad antimicrobiana de las cepas aisladas. El fitopatógeno P. *variabilis* previamente aislado, fue cultivado en placas de agar papa-dextrosa (PDA) a 25 °C durante 10 días y se colocaron discos de papel filtro estéril para que el fitopatógeno pueda crecer en ellos. El bioinsumo fue colocado en discos de papel filtro estéril, los discos fueron colocados en los extremos de la caja Petri, Figura 1. Las placas fueron incubadas a 28°C durante 7 días, y se verificó la formación de una zona de aclaramiento alrededor de los discos. El tamaño de esta zona fue utilizado como indicador del potencial de actividad de biocontrol. Como control positivo, se empleó placas inoculadas únicamente con el patógeno, sin aislamientos microbianos.

Figura 1

Esquema del ensayo de actividad antagónica



2.2.2.3. Evaluación del efecto antagonista in vitro

Se realizó pruebas de antagonismo utilizando el método de doble cultivo. Después del periodo de incubación, se midió los halos de inhibición del crecimiento fúngico. El área de inhibición se calculó utilizando la fórmula

$$Área = \pi * \left(\frac{d}{2}\right)^2$$

Ecuación 4 *Área de inhibición*

Donde d es el diámetro del halo de inhibición. Este método ha sido utilizado en estudios previos de control biológico in vitro de P. *variabilis* **(Charan et al., 2022).**

2.2.2.4. Medición de la inhibición

La eficacia del bioinsumo se evaluó en función del porcentaje de inhibición del patógeno. Se calculará el porcentaje de inhibición comparando el área de control (sin bioinsumo) con el área de tratamiento (con bioinsumo), utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \, de \, inhibición = \frac{Área \, de \, control - Área \, de \, tratamiento}{Área \;\; de \, control} \cdot 100$$

Ecuación 5 *Porcentaje de inhibición*

2.2.3. Análisis del desarrollo de la infección por *Peronospora variabilis* Gaum en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) sembradas en suelos supresivos a nivel de invernadero.

2.2.3.1. Aislamiento y purificación del Patógeno

Se seleccionaron hojas de (*Chenopodium quinoa* wild) que presenten síntomas característicos de mildiu, como manchas cloróticas en el haz y esporulación en el envés. Las muestras se recolectaron de diferentes campos de cultivo para asegurar la diversidad de los aislamientos en la provincia de Chimborazo cantón Colta. Posteriormente fueron desinfectadas sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 2 minutos. Se lavarán cuidadosamente en agua destilada estéril o tampón PBS para eliminar residuos del desinfectante. Fragmentos de aproximadamente 1 cm² de las hojas infectadas se colocaron directamente sobre placas de medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar), el medio de cultivo se ajustó a un pH de 5.5 para promover el desarrollo óptimo del patógeno, suplementado con antibióticos (e.g., estreptomicina a 100 mg/L) para prevenir el crecimiento de bacterias contaminantes **Shen et al. (2024),** las placas se incubaron a 20–22 °C en oscuridad por 7 a 10 días, monitoreando la aparición de estructuras miceliales y esporulación.

2.2.3.2 Siembra de semillas de quinua

Siguiendo la metodología de **Khalifa et al. (2024),** las semillas de quinua fueron esterilizadas superficialmente mediante etanol al 70 % durante 1 minuto, seguido de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 0,5 % durante 3 minutos, y enjuagadas completamente con agua destilada estéril para eliminar cualquier contaminante. Posteriormente, se sembraron cinco semillas en vasos de plástico de 12 oz, los cuales estarán llenos con una mezcla de suelo caracterizado como supresivo o no supresivo y

una proporción 3:1 de turba más perlita. Los vasos se mantuvieron en un invernadero bajo condiciones controladas de temperatura (25 ± 3 °C durante el día y 18 ± 3,5 °C por la noche), un fotoperíodo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad. El riego se realizó manualmente utilizando una solución nutritiva de Hoagland, aplicando 50 mL por vaso, para mantener una humedad constante en el sustrato sin generar encharcamiento.

2.2.3.3 Infección de las plántulas de quinua

Siguiendo la metodología de **Ramírez et al. (2018),** las plántulas de quinua de tres semanas de edad, se cultivaron previamente en condiciones de invernadero, se inocularon con la suspensión de esporas de *P. variabilis.* La aplicación de la suspensión se realizó rociando directamente sobre las hojas de las plántulas hasta que queden completamente cubiertas. Para garantizar una alta humedad y favorecer la infección, las plántulas inoculadas se colocaron en un cooler para mantener su humedad (80-90%) durante 24 a 48 horas, cubriéndolas con una bolsa plástica transparente que permita mantener un ambiente húmedo. Después de este período, se retiró la bolsa plástica y las plántulas se mantuvieron bajo las condiciones de invernadero previamente descrito.

2.2.3.4 Monitoreo del desarrollo de la infección

A partir de la inoculación, se llevó a cabo un monitoreo diario de la evolución de la infección por P. *variabilis* en las plantas, observando el desarrollo de síntomas característicos como manchas cloróticas en el haz y eflorescencias blancas o grisáceas en el envés de las hojas. Para evaluar la severidad de la infección, se empleó dos escalas basadas en el porcentaje de área foliar afectada. La primera escala, con un rango de 0 a 10, considera el área foliar total de la planta, donde 0 indica ausencia de infección y los valores aumentan en intervalos del 10 % (1 = 1-10 % de área afectada, 2 = 11-20 %, y así sucesivamente). La segunda escala, de 0 a 5, se enfoca en el tercio medio de la planta, asignando un valor de 0 para la ausencia de infección y aumentando en intervalos del 20 % de área afectada (1 = 1-20 %, 2 = 21-40 %, etc.) **(Khalifa et al., 2024).**

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características fisicoquímicas y microbiológicas de los suelos supresivos.

En la Tabla 3 se muestra el resultado para las características fisicoquímicas de los suelos supresivos y conductivos utilizados.

Tabla 3

Características fisicoquímicas de las muestras de suelos

Tipo de suelo	pH	%C	%N
Suelo Supresivo	6,0755 ± 0,002	5,4100 ± 0,05	0,5050 ± 0,03
Suelo Conductivo	6,4748 ± 0,017	4,0925 ± 0,31	0,4525 ± 0,01

Nota. La prueba t de Student para muestras independientes mostró diferencias significativas en pH, contenido de carbono y contenido de nitrógeno entre los tratamientos en suelos supresivos y conductivos.

Tabla 4

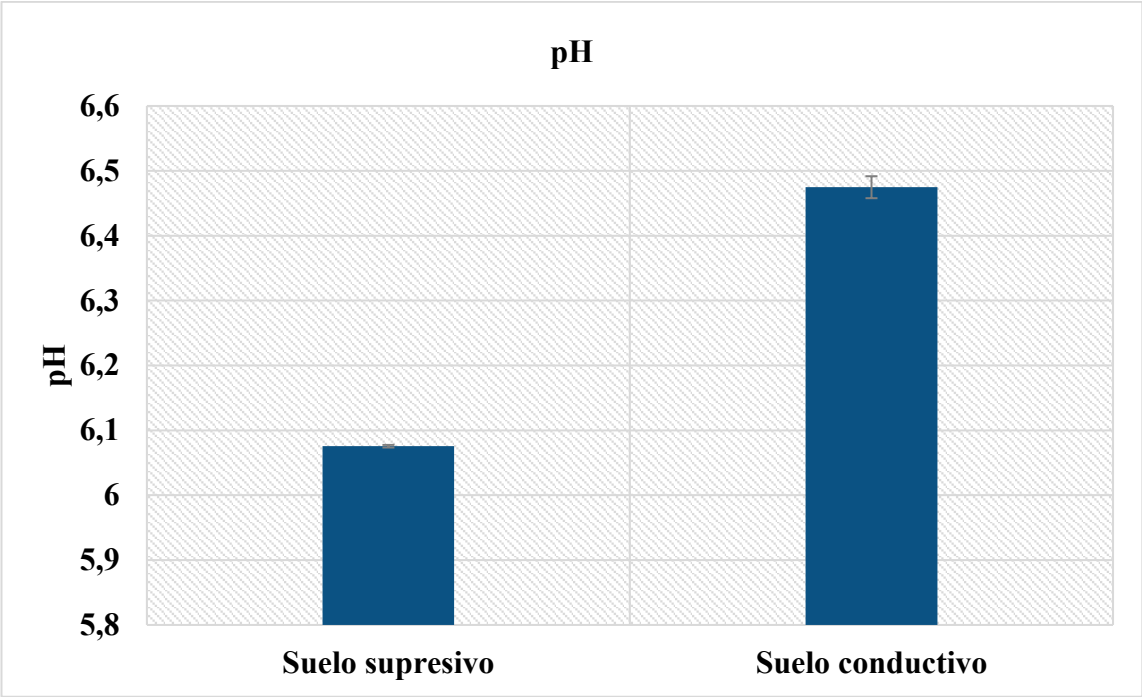
Relación C:N

Tipo de suelo	C:N
Suelo supresivo	10,7:1
Suelo conductivo	9,04:1

Nota. Relación C : N obtenida de la división entre C orgánico total y N total.

Figura 2

Contenido de pH de las muestras de suelos



Nota. Las barras muestran el valor medio de pH ± error estándar para cada tipo de suelo. Se observó una diferencia significativa entre ambos suelos según la prueba t de Student ($p < 0.05$), con un mayor contenido de pH en el suelo conductivo.

Los resultados obtenidos en la Figura 2, evidencian que el suelo conductivo presenta un pH significativamente más alto (≈ 6,5) que el suelo supresivo (≈ 6,1) según lo demostrado por la prueba de t de Student presentada en el Anexo 8. Este aumento de 0,4 unidades muestra un ambiente ligeramente menos ácido en el suelo conductivo, condición que puede modificar la disponibilidad de nutrientes y la composición microbiana, influyendo en la capacidad del suelo para suprimir ciertas enfermedades.

El pH del suelo es un factor determinante en la estructura y riqueza microbiana en suelos agrícolas. Dentro del rango óptimo de 6,0 a 7,0, la mayoría de los nutrientes esenciales se encuentran en formas solubles que pueden ser absorbidas eficientemente por las raíces de las plantas **(Khaled & Sayed, 2023).** Pequeñas desviaciones dentro o fuera de este rango óptimo pueden afectar tanto la dinámica microbiana como la biodisponibilidad de nutrientes clave. De modo que, la ligera acidificación observada

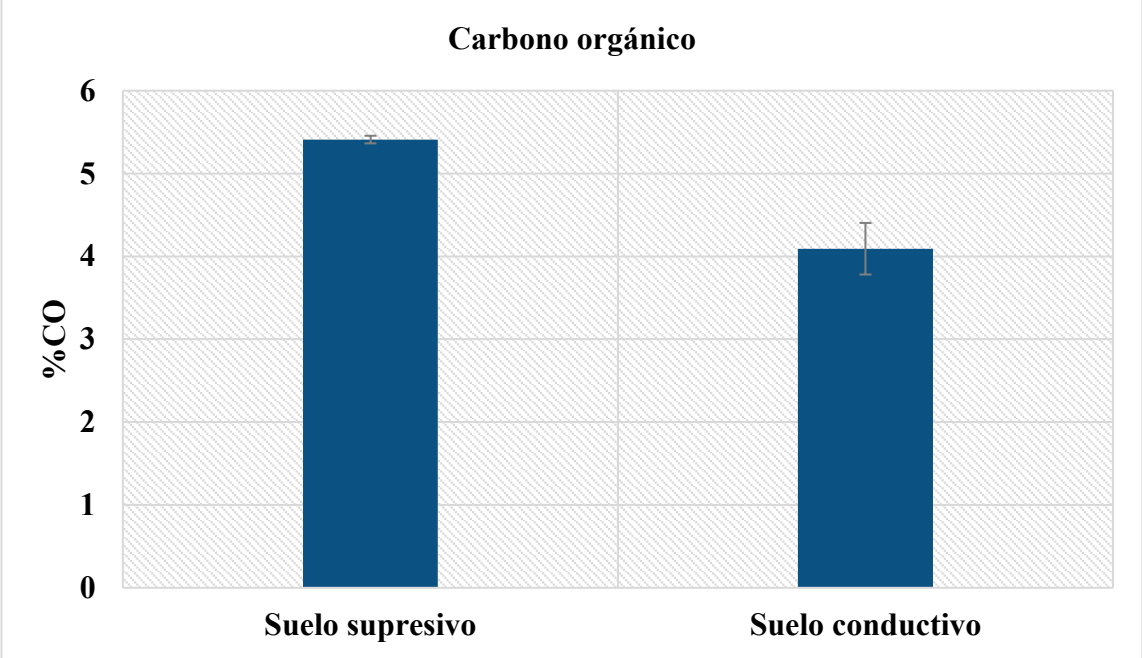
en el suelo supresivo reorganiza la rizosfera y favorece a la mayor supresión del patógeno, ya que selecciona comunidades bacterianas y fúngicas distintas, pues el pH es el principal determinante de la riqueza y composición microbiana de los suelos agrícolas **(Lammel et al., 2018).** En contraste, el suelo conductivo ofrece condiciones casi neutras que maximizan la actividad metabólica general, pero reducen la presión selectiva sobre los antagonistas y permiten que patógenos se establezcan con mayor facilidad **(Gómez Expósito et al., 2017).**

Varios estudios han destacado la importancia del pH en la nutrición vegetal y en las comunidades microbianas del suelo. **Zouari et al. (2025)** reportaron en su estudio un aumento marginal en el pH del suelo, de 7.9 a 8.1, lo que indicó una tendencia hacia condiciones más alcalinas. Este cambio, aunque leve, tuvo un impacto negativo en la biodisponibilidad de nutrientes esenciales para el crecimiento de la quinua. Demostrando, que incluso pequeñas variaciones hacia una mayor alcalinidad pueden reducir significativamente la disponibilidad de estos nutrientes. Por otro lado, el estudio de **Oni et al. (2020),** muestra que el suelo supresivo presentó un pH de 5,15, claramente más ácido, el cual favorece a microorganismos antagonistas como *Pseudomonas koreensis*, capaces de suprimir eficazmente enfermedades como la pudrición causada por *Pythium*. Mientras que suelos conductivos menos ácidos o neutros presentaron un pH cercano a 7 facilitando la proliferación de patógenos.

Por tanto, estos estudios refuerzan la hipótesis de que pequeñas variaciones en el pH, como la diferencia observada en la Tabla 2, entre el suelo supresivo (pH 6,1) y el conductivo (pH 6,5), pueden alterar significativamente la dinámica microbiana del suelo. El pH más bajo favorecería microorganismos antagonistas capaces de suprimir patógenos como *P. variabilis,* mientras que el pH más alto podría comenzar a reducir la disponibilidad de nutrientes clave para la quinua.

Figura 3

Contenido de carbono de las muestras de suelos



Nota. Las barras muestran el valor medio carbono orgánico (CO) ± error estándar para cada tipo de suelo. Se observó una diferencia significativa entre ambos suelos según la prueba t de Student ($p < 0.05$), con un mayor contenido de pH en el suelo supresivo.

Los resultados obtenidos en la Figura 3, evidencian que el suelo supresivo contiene un porcentaje notablemente más alto de carbono orgánico (≈ 5,4 % CO) que el suelo conductivo (≈ 4,1 % CO) según lo demostrado por la prueba de t de Student presentada en el Anexo 9. Esta diferencia absoluta, cercana al 1,3 %, señala una mayor acumulación de materia orgánica en el primero, lo que representa un incremento relativo del 32 %, la mayor concentración y la menor variabilidad de carbono en el suelo supresivo se asocian con una fertilidad química más estable y con la presencia de sustratos que favorecen comunidades microbianas benéficas.

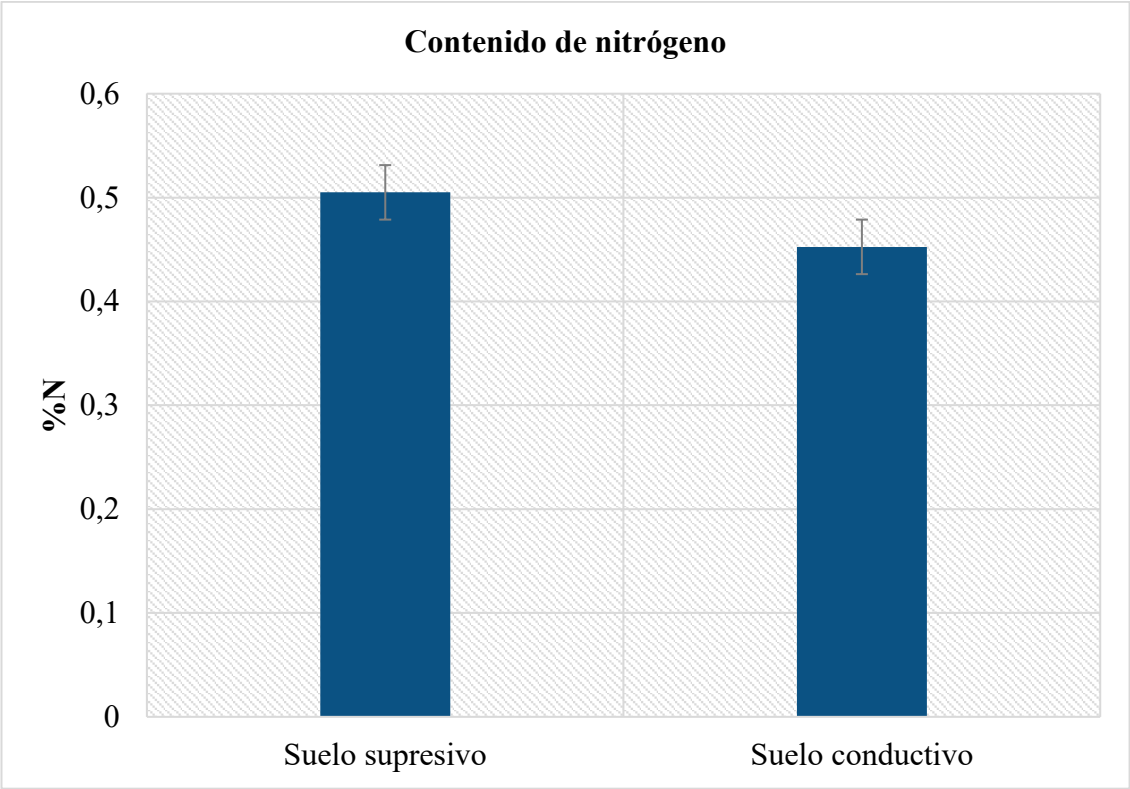
Según las categorías propuestas por la **FAO/IIASA/ISRIC/ISSCAS/JRC (2012),** en la mayoría de los suelos minerales el contenido de carbono orgánico suele encontrarse en intervalos muy bajos debido a la predominancia de materiales minerales, las categorías de salud del suelo se basan en: muy bajo < 0,2 % CO, bajo 0,2-0,6 % CO en un intervalo medio ≈ 0,6-1,20% CO en un intervalo alto 1,20-2% CO, muy alto en

un intervalo > 2 % CO. Pero cuando el contenido de carbono supera ciertos límites, el suelo deja de comportarse como mineral y pasa a la categoría de orgánico (Histosol) únicamente cuando el CO supera 12 % en texturas sin arcilla. En Ecuador en ecosistemas de páramo alto andino presentan valores medios de CO superiores a 2 % (muy alto), llegando incluso a > 4 % en microcuencas protegidas **(Reyna-Bowen et al., 2018).**

Al observar la Tabla 3, se evidencia que los valores obtenidos en suelos supresivos (≈ 5,4 %) y conducivos (≈ 4,1 %) se ubican por encima del umbral "muy alto" para suelos minerales (> 2,0 %). Este hecho evidencia que ambos tipos de suelo presentan una estructura estable y una elevada fertilidad, pero la diferencia a favor del suelo supresivo señala una mayor capacidad para sostener comunidades microbianas antagonistas y mecanismos de biocontrol naturales frente a patógenos. En el estudio de **Khatri et al. (2024)** se reportó que los valores de CO en suelos supresivos frecuentemente superan el 4 %, mientras que los suelos conducivos se sitúan alrededor del 2–3 %. Mientras que, en el estudio de **Hernández Arboláez et al. (2021)**, se comparó un suelo supresivo frente a uno conductivo en cultivo de frijol, reportando valores de CO ≈ 5,3 % en el supresivo frente a CO ≈ 3,9 % en el conductivo. Además, la longitud de la lesión por *Fusarium* se redujo en un 30 % en el supresivo, y el CO fue el único factor que mostró regresión significativa con la severidad de la enfermedad en el manejo orgánico, lo cual coincide con los valores obtenidos (≈ 5,4 % vs. ≈ 4,1 %) destacando el mayor potencial biocontrolador del suelo supresivo.

Figura 4

Contenido de nitrógeno de las muestras de suelos



Nota. Las barras muestran el valor medio de contenido de nitrógeno ± error estándar para cada tipo de suelo. Se observó una diferencia significativa entre ambos suelos según la prueba t de Student ($p < 0.05$), con un mayor contenido de nitrógeno en el suelo supresivo.

Los resultados obtenidos en la Figura 4, evidencian que el suelo el suelo supresivo contiene un porcentaje notablemente más alto de nitrógeno total (≈ 0,50% N) que el suelo conductivo (≈ 0,45 % N) según lo demostrado por la prueba de t de Student presentada en el Anexo 10. Presenta una diferencia absoluta ≈ 0,50% N. En cuanto a la relación C/N observado en la Tabla 4, el suelo supresivo alcanza un valor medio de 10,7:1, mientras que el conductivo se sitúa en 9,0:1. Esta diferencia de 1,7 unidades indica que, aunque ambos suelos se mantienen en el rango considerado óptimo para una liberación equilibrada de nitrógeno, el supresivo retiene proporcionalmente más carbono por unidad de nitrógeno.

En la investigación de **Oni et al. (2020),** el suelo supresivo presentó un contenido de nitrógeno total de 0,73 % frente al 0,17 % registrado en el suelo conductivo. Estos valores muestran cierta similitud con los resultados obtenidos de en la Tabla 3, donde el suelo supresivo mostró un mayor porcentaje que el conductivo. Además, la relación C:N en el la investigación fue de aproximadamente 8,3:1 en el supresivo y 11,3:1 en el conductivo, mientras que en nuestros suelos los cocientes fueron de 10,7:1 y 9,0:1, respectivamente. De acuerdo con, **Car** la relación optima de C:N es de (~8-12:1) para mantener un equilibrio saludable entre la acumulación de materia orgánica y liberación de nutrientes, por tanto, los valores obtenidos siguen siendo muy adecuado para una buena producción sin exceder límites críticos.

En la Tabla 5 se muestra el resultado de la caracterización microbiológica de los suelos utilizados

Tabla 5

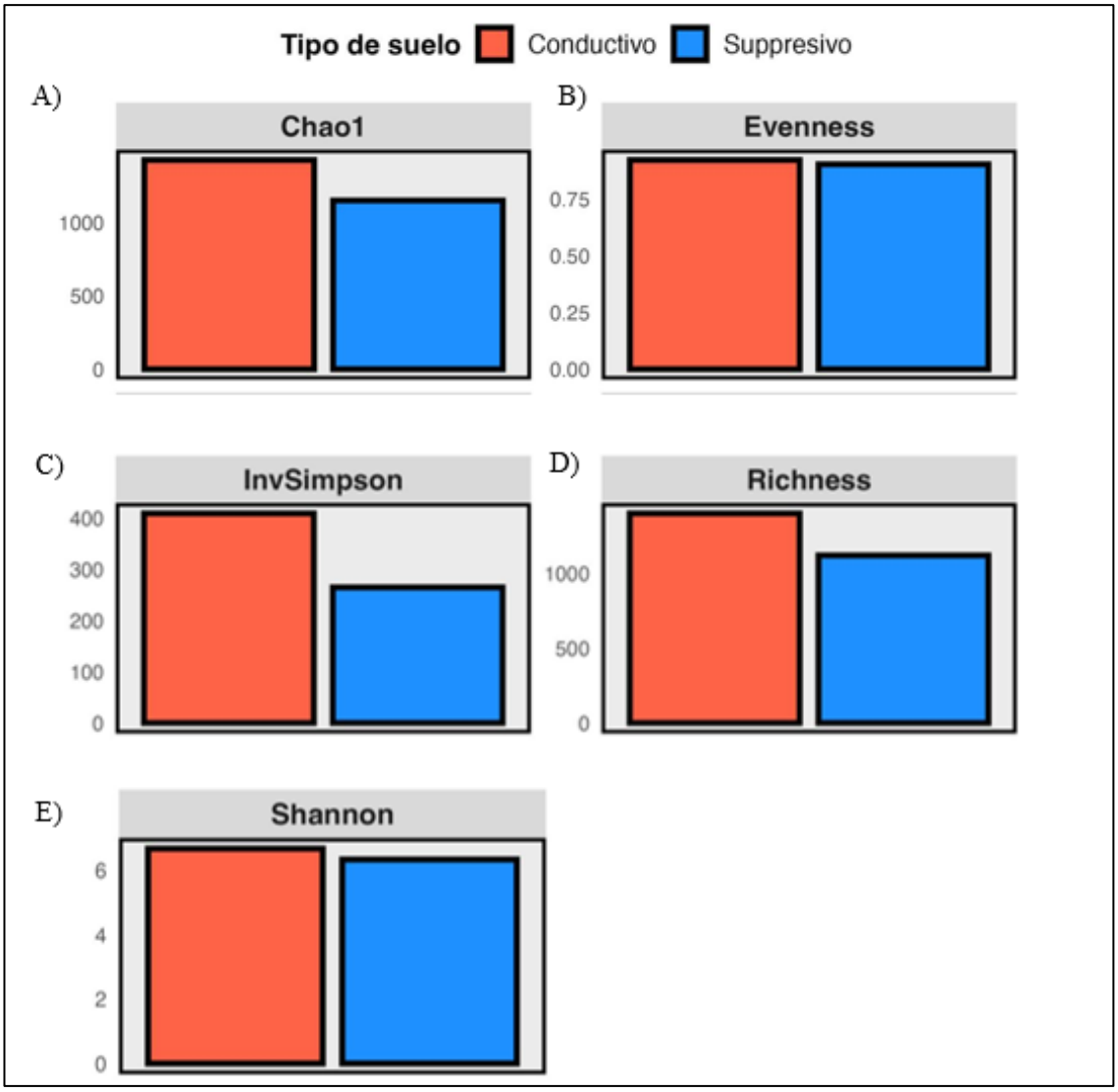
Índices de alfa diversidad para los tipos de suelo

Compartimento	Riqueza	Chao1	Shannon	InvSimpson	Evenness
Suelo supresivo	1126	1171,374	6,322674	255,5005	0,899842
Suelo conductivo	1406	1446,564	6,682698	408,8168	0,921942

Nota. los índices de alfa diversidad reflejan la diversidad y distribución de las especies en cada tipo de suelo.

Figura 5

Métricas de alfa diversidad para los tipos de suelos



Nota. **A)** riqueza estimada de especies **B)** equitatividad **C)** diversidad, teniendo en cuenta tanto la riqueza como la dominancia **D)** riqueza observada **E)** diversidad, considerando tanto la riqueza como la equitatividad de las especies.

En la Tabla 5 se presentan los índices de alfa diversidad para los compartimentos de suelo supresivo y conductivo. Se observó que el suelo conductivo mostró valores superiores en todos los índices analizados en comparación con el suelo supresivo. En particular, el suelo conductivo presentó una mayor riqueza observada (1406) y estimada (Chao1 = 1446,56) respecto al suelo supresivo (riqueza = 1126; Chao1 = 1171,37). Asimismo, los valores de diversidad, expresados tanto por el índice de

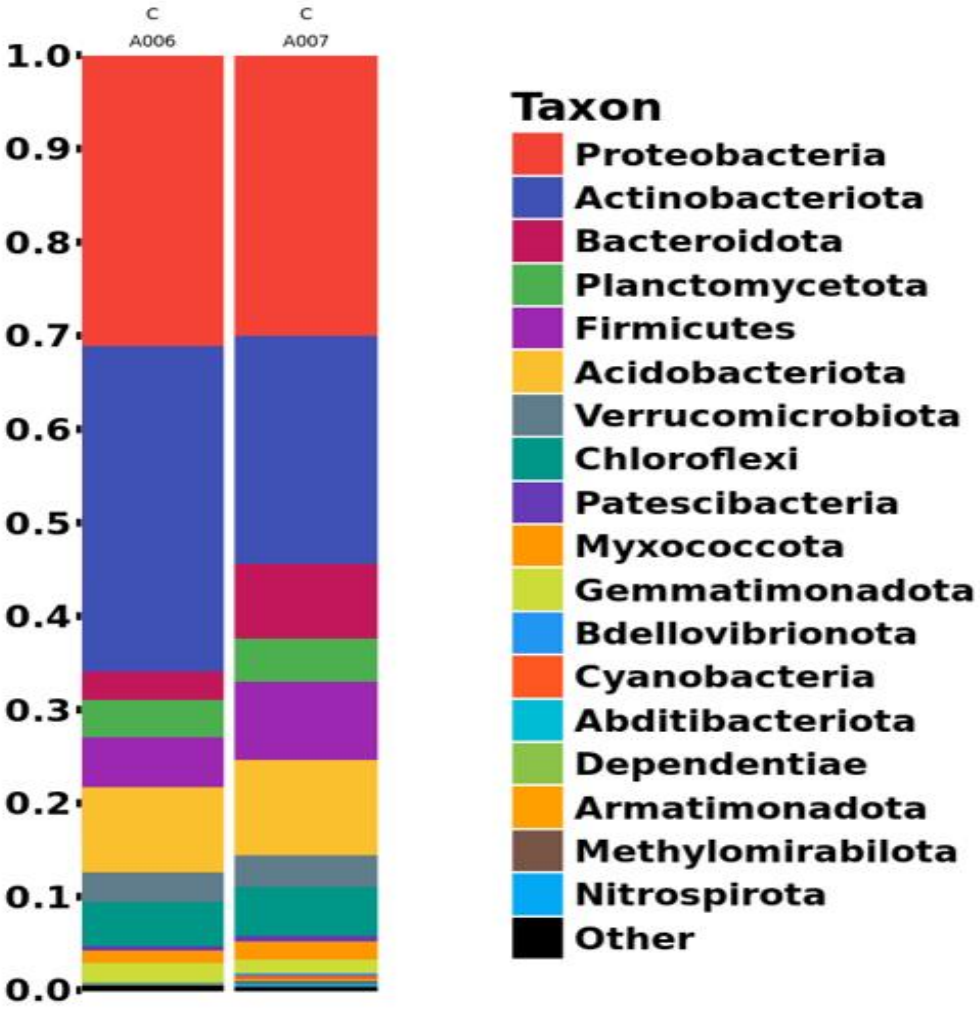
Shannon (6,68 vs. 6,32) como por el índice de InvSimpson (408,82 vs. 255,50), fueron mayores en el suelo conductivo, indicando una mayor complejidad y menor dominancia de especies. El índice evenness también fue ligeramente superior en el suelo conductivo (0,92) respecto al supresivo (0,90), lo que sugiere una distribución más uniforme de las especies en este tipo de suelo. Estos resultados se visualizan en la Figura 5, donde se resumen gráficamente las diferencias en las métricas de alfa diversidad entre ambos tipos de suelo.

En este estudio, el suelo supresivo mostró valores inferiores en los índices de diversidad alfa en comparación con el suelo conductivo Figura 5. Estos resultados sugieren que la supresión de enfermedades no necesariamente está asociada con una mayor diversidad microbiana, sino que podría depender de la presencia y actividad de taxones funcionalmente relevantes. **Berendsen et al. (2012),** argumentan que la estabilidad y funcionalidad de las comunidades microbianas en suelos supresivos radica en la presencia de microorganismos clave capaces de ejercer efectos antagónicos sobre patógenos, más que en la diversidad global de la comunidad.

Mendes et al. (2011) demostraron que la supresión de enfermedades en suelos agrícolas está frecuentemente asociada con una mayor abundancia de grupos bacterianos específicos, particularmente del género *Pseudomonas*, más que con una alta diversidad total. De acuerdo con los resultados reportados por **Yin et al. (2013),** se encontró que suelos naturalmente supresivos a *Rhizoctonia solani* en trigo presentan una menor riqueza bacteriana en comparación con suelos conductivos, pero una mayor abundancia relativa de bacterias antagonistas como *Pseudomonas y Streptomyces.* Al comparar estos resultados con los presentes en esta investigación podemos señalar que la menor diversidad observada en el suelo supresivo podría reflejar una comunidad microbiana más especializada y eficiente en la supresión de patógenos.

Figura 6

Abundancias relativas de los filos más abundantes presentes en los suelos supresivos y conductivos



Nota. Composición relativa de los principales filos bacterianos en muestras de suelo supresivo (A006) y conductivo (A007). Se destaca los taxones más representativos, Proteobacteria, Actinobacteriota, Bacteroidota y Acidobacteriota.

En la Figura 6 se presenta la composición relativa de los filos bacterianos dominantes en los suelos supresivo y conductivo. Ambas comunidades microbianas están dominadas principalmente por Proteobacteria y Actinobacteriota, aunque se observa una mayor proporción relativa de Actinobacteriota en el suelo supresivo en comparación con el conductivo. Por el contrario, el suelo conductivo muestra una mayor abundancia relativa de Firmicutes y Bacteroidota.

Diversos estudios han demostrado que dentro de estos filo dominantes, existen familias bacterianas asociadas a la supresión de patógenos y la inducción de resistencia en plantas. Por ejemplo, miembros de la familia Pseudomonadaceae (Proteobacteria), como el género *Pseudomonas*, han sido ampliamente documentados por su capacidad de producir antibióticos, sideróforos y compuestos volátiles que inhiben el desarrollo de hongos fitopatógenos, además de inducir resistencia sistémica en plantas hospedadoras **(Mendes et al., 2011).** De manera similar, la familia Streptomycetaceae (Actinobacteriota) agrupa a *Streptomyces*, conocidos por su producción de antibióticos naturales y su papel central en suelos con actividad supresiva **(Chapelle et al., 2016).** Por otro lado, Bacillaceae (Firmicutes), representados por especies del género *Bacillus*, también han sido identificados como agentes efectivos en la supresión de enfermedades del suelo a través de la producción de lipopeptidos antimicrobianos y la activación de defensas en las plantas **(Berendsen et al., 2012).**

Tabla 6

ASV con abundancia diferencial en suelos supresivos

ASV	Filo	Familia	Abundancia
11	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	517
52	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	317
59	Firmicutes	Bacillaceae	260
39	Actinobacteriota	Micrococcaceae	249
33	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	227
69	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	227
103	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	203
91	Proteobacteria	Burkholderiaceae	196
84	Firmicutes	Bacillaceae	172
143	Proteobacteria	Rhizobiaceae	146

Nota. Se muestran los diez ASV más diferenciales según su clasificación taxonómica a nivel de filo y familia.

En la Tabla 6 se muestra el análisis de la comunidad bacteriana asociada a la muestra, se identificaron los ASV más abundantes, pertenecientes principalmente a los filos

Proteobacteria, Actinobacteriota y Firmicutes. Destacan la familia Xanthobacteraceae, Streptomycetaceae, Bacillaceae, Micrococcaceae, Sphingomonadaceae, Burkholderiaceae y Rhizobiaceae.

Algunas de estas familias, como Streptomycetaceae, Bacillaceae y Burkholderiaceae, han sido reportadas por su papel como agentes de biocontrol biológico y promotores del crecimiento vegetal demostrando una reducción promedio del 56 % en enfermedades causadas por patógenos **(Khan et al., 2023).** También se han observado incrementos significativos de familias como Burkholderiaceae y Sphingomonadaceae en suelos supresivos frente a patógenos, apoyando su rol activo en la supresión de enfermedades por medio de mecanismos antagonistas y competencia por recursos **(Chapelle et al., 2016).**

En este análisis, los ASV más abundantes correspondieron principalmente a Xanthobacteraceae, Streptomycetaceae, Bacillaceae, Micrococcaceae, Sphingomonadaceae, Burkholderiaceae y Rhizobiaceae. De acuerdo con el estudio de **Pan et al. (2025),** sobre el microbioma de soja y colza se identificó un enriquecimiento de Sphingomonadaceae asociado a un aumento en el rendimiento, sugiriendo un papel funcional en la supresión de patógenos y en la promoción del crecimiento vegetal. **Chapelle et al. (2016)** encontraron que Streptomyces es uno de los principales géneros responsables de la supresión de enfermedades fúngicas, gracias a su habilidad para modular el microbioma del suelo y producir compuestos antifúngicos. Así mismo en el estudio de **Mendes et al. (2011),** familias como Sphingomonadaceae (ASV69 y ASV103) y Burkholderiaceae (ASV91), con abundancias considerables en la muestra, han sido reportadas como componentes frecuentes en suelos supresivos, donde contribuyen a la degradación de compuestos tóxicos, la competencia por recursos y la inhibición del desarrollo de patógenos.

Por otra parte, la familia Rhizobiaceae (ASV84), aunque es tradicionalmente conocida por su papel en la fijación biológica de nitrógeno a través de simbiosis con leguminosas, también ha sido reportada como promotora de crecimiento y como agente indirecto de biocontrol en la rizosfera. Además, Rhizobiaceae puede modular la composición del microbioma de la raíz, favoreciendo la presencia de otros

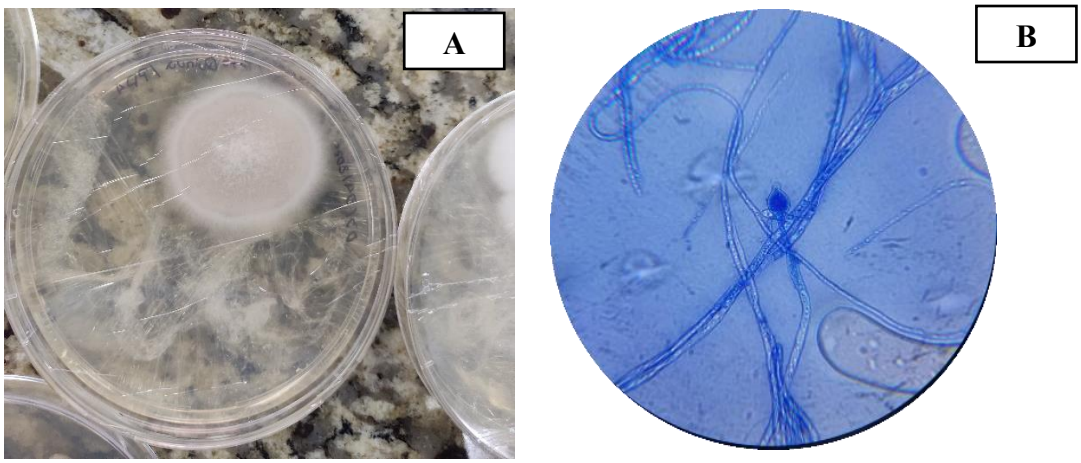
microorganismos benéficos y reforzando la protección contra enfermedades del suelo **(Martínez-Hidalgo & Hirsch, 2017).**

3.2. Aislamiento de *P. Variabilis.*

En la Figura 7 se muestran estructuras características de *P. variabilis* tras su aislamiento en PDA y tinción con azul de lactofenol.

Figura 7

Peronospora variabilis



Nota. Aislamiento e identificación. **(A)** Crecimiento de *P. variabilis* en medio PDA; **(B)** Estructuras observadas en el microscopio óptico (100x) tras tinción con azul de lactofenol, donde se evidencian conidióforos ramificados y conidios terminales, compatibles con los patrones morfológicos descritos para el agente causal del mildiu.

En la Figura 7B se identifican estructuras características de *P. variabilis*, tales como conidióforos hialinos y ramificados, acompañados de conidios globosos en sus extremos. Esta morfología concuerda con lo descrito por **Calderón-González et al. (2023),** quienes observaron estructuras similares emergiendo de las estomas foliares de quinua. En su estudio, los conidióforos presentaban un patrón de ramificación perpendicular y simétrica, características que también se aprecian en nuestra imagen microscópica.

A nivel estructural, se observa además que las hifas carecen de tos visibles, lo cual es consistente con las características de los oomicetos, grupo al que pertenece *P. variabilis*. Esta particularidad ha sido destacada por **Assiuty et al. (2019),** quienes describieron la naturaleza hialina y aseptada de las hifas, así como la presencia de conidios terminales redondeados en tejidos infectados de quinua. En su análisis, los conidióforos se presentaban como estructuras rectas con ramificaciones apicales que se asemejan en forma y disposición a las evidenciadas en esta investigación, lo que refuerza la validez del diagnóstico morfológico.

Por otro lado, estudios recientes realizados por el Sistema Nacional de Vigilancia de Plagas en Argentina reportan que *P. variabilis*, que su fase asexual se caracteriza por esporas ovoides de germinación directa, producidas en conidióforos que emergen en forma dicotómica desde hifas cenocíticas, generando un micelio ramificado de forma característica **(SENASA, 2020).** Esta descripción coincide plenamente con las estructuras observadas en nuestra Figura 7B, tanto en la organización ramificada del micelio como en la tipología de las hifas y conidios, lo que fortalece nuestra interpretación de que el aislamiento se encontraba en una fase activa de esporulación.

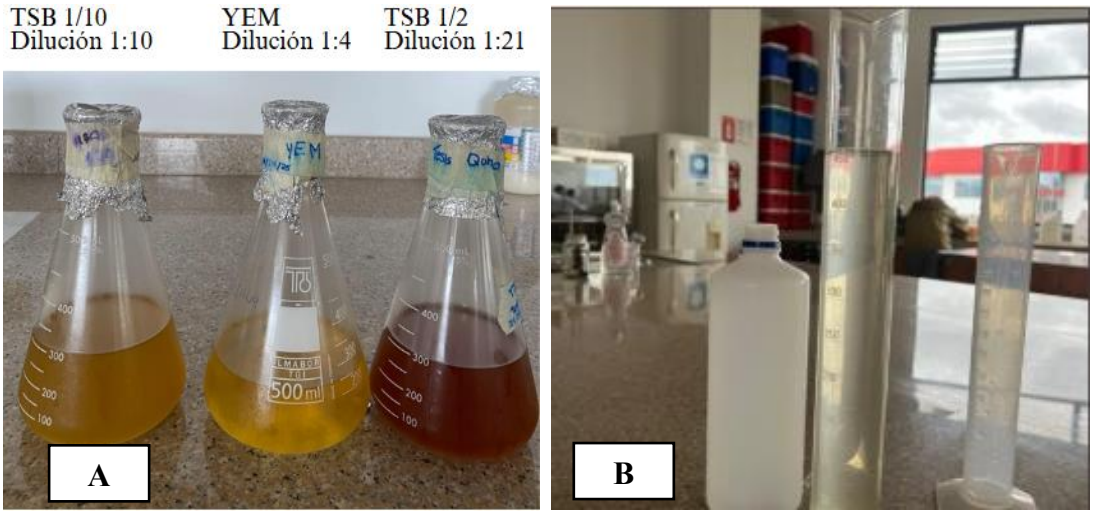
La forma de ramificación dicotómica observada en nuestras imágenes, sumada a la posición apical de los conidios y la ausencia de septos en las hifas, permite descartar la presencia de otros patógenos morfológicamente similares, como *Alternaria* o *Fusarium*, cuyas estructuras son septadas y presentan conidios multicelulares con disposición diferente. Además, **Kara et al. (2020)** indicaron que los conidios de *P. variabilis* son lisos, de forma elipsoidal a globosa, y miden entre 25–35 × 22–27 µm, dimensiones que concuerdan visualmente con lo observado en nuestra muestra. En conjunto, estos elementos morfológicos permiten confirmar, con base en evidencia científica, que las estructuras captadas en las imágenes corresponden a *P. variabilis*.

3.2 Bioinsumo obtenido a partir de suelo supresivo

Como se muestra en la Figura 8 el bioinsumo se obtuvo mediante la mezcla equimolar de cepas bacterianas cultivadas en medios seleccionados según su tipo de crecimiento: lento, rizobianas y rápido.

Figura 8

Bioinsumo



Nota. **(A)** Cultivos individuales de cepas bacterianas en los medios TSB 1/10 (1:10), YEM (1:4) y TSB 1/21 (1:21), según su tipo de crecimiento. **(B)** Bioinsumo obtenido a partir de la mezcla equimolar de las cepas previamente cultivadas.

Los resultados obtenidos mediante el análisis del suelo supresivo revelan que alberga bacterias con funciones clave en el control biológico, como *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Paenibacillus* y *Xanthobacter*. Estas bacterias mostraron una clara capacidad de adaptación a medios de cultivo con bajo contenido nutricional, como TSB ½, TSB/10 y YEM, siendo TSB ½ el que permitió un crecimiento más rápido y evidente, especialmente en cepas de *Burkholderia* y *Paenibacillus*. Esta adaptabilidad es relevante, donde los nutrientes son limitados, y permite identificar microorganismos resistentes y funcionales para ser usados como bioinsumos. **Mendes et al. (2011),** indican que los suelos supresivos se caracterizan por una microbiota activa que no solo inhibe patógenos, sino que también prospera en ambientes competitivos. Además, **Berendsen et al. (2012)** destacan que géneros como *Streptomyces* y *Burkholderia* tienen un papel clave en la producción de antibióticos naturales y compuestos volátiles, lo que refuerza su potencial como agentes supresores

En la Figura 8A se observan tres cultivos bacterianos individuales desarrollados en diferentes medios líquidos: TSB 1/10, YEM, y TSB 1/2, todos con distintas diluciones. El medio **TSB 1/10**, con una dilución ligera (1:10), presentó una tonalidad amarilla

clara, lo que indica un crecimiento activo pero moderado. Este comportamiento es ideal para cepas de crecimiento rápido, ya que evita la sobrepoblación celular, promueve la estabilidad y reduce el riesgo de dominancia en mezclas multicepa. Además, su bajo contenido de nutrientes permite mantener un balance adecuado de biomasa sin comprometer la viabilidad **(Cherwell Labs, 2022).**

En contraste, el medio **YEM** (1:4) mostró una turbidez más intensa y un color amarillo más brillante. Este medio es específico para rizobios, ya que contiene manitol como fuente de carbono y extracto de levadura como suplemento nitrogenado, elementos claves para el metabolismo y la actividad simbiótica de estas bacterias **(Technical Data, 2019).** La alta densidad visual sugiere que las cepas rizobianas crecieron de manera eficiente, conservando su funcionalidad para establecer asociaciones con raíces. Su inclusión en la mezcla garantiza el aporte de microorganismos fijadores de nitrógeno, fundamentales en sistemas agrícolas sostenibles.

El medio **TSB 1/2** (dilución 1:21), con la coloración más oscura entre los tres, evidenció un crecimiento bacteriano más denso. Este comportamiento es coherente con cepas de crecimiento lento que, al contar con una mayor disponibilidad de nutrientes en un medio menos diluido, lograron alcanzar una alta densidad celular **(Cherwell Labs, 2022).**

El bioinsumo formulado a partir de los tres cultivos como se evidencia en la Figura 8B presentó una apariencia blanca, homogénea y ligeramente turbia, sin presencia de sedimentos ni fases separadas, lo cual indica una suspensión bacteriana estable y con alta densidad celular. Esta apariencia visual es similar al estándar McFarland 1.0, el cual se utiliza como referencia microbiológica para estimar una concentración aproximada $3*10^8$ $UFC.ml^{-1}$ **(Souza et., 2020).** Aunque no se realizaron recuentos en placa, esta comparación visual es una técnica aceptada para estimar densidades celulares en formulaciones bacterianas, especialmente cuando se requiere una estandarización práctica y rápida **(CLSI, 2012).**

En aplicaciones *in vitro,* concentraciones equivalentes a McFarland 1.0 permiten una colonización efectiva sin interferencias por sobrepoblación bacteriana, favoreciendo

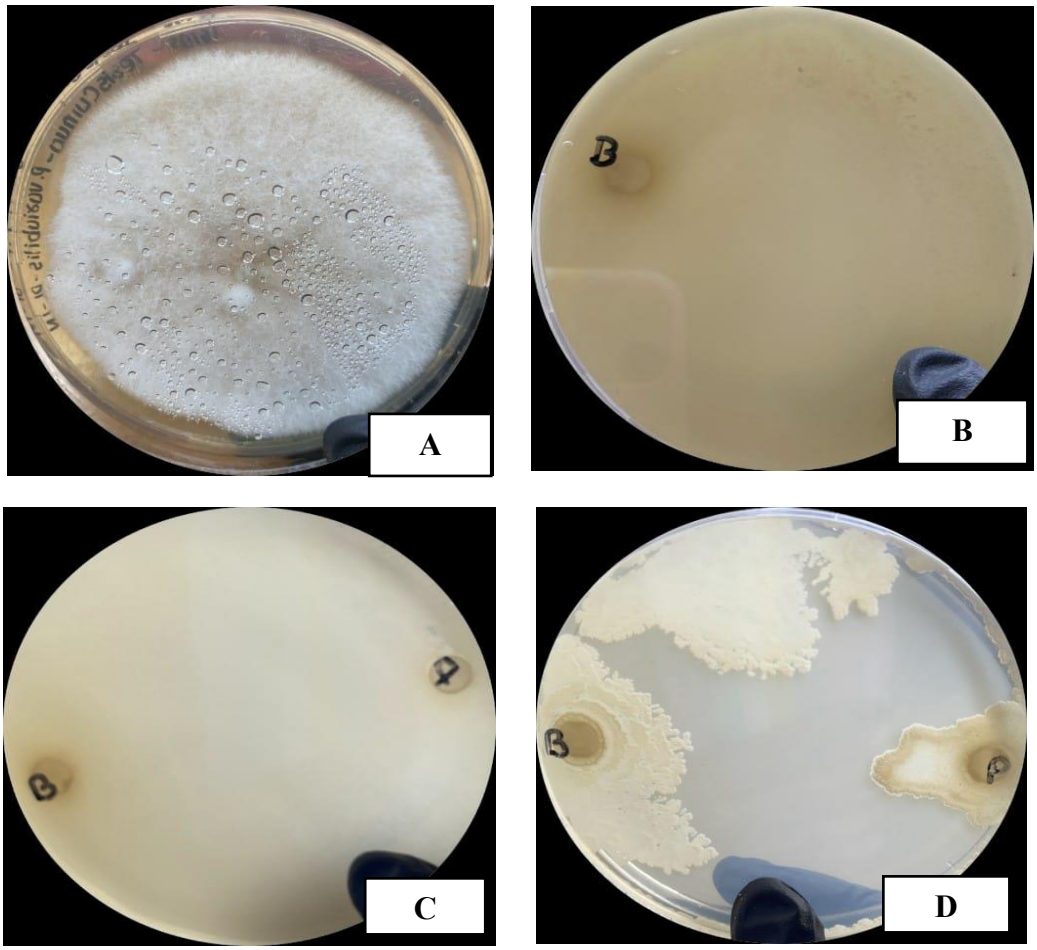
el desarrollo de tejidos vegetales **(Singh et al., 2011).** En condiciones de campo, este rango de concentración ha demostrado mejorar la interacción rizosférica, la absorción de nutrientes y la tolerancia al estrés en diversos cultivos **(Vessey, 2003).**

3.2.2 Capacidad biocontroladora *in vitro*

En la Figura 9 se evidencia la evaluación del efecto antagonista *in vitro* del bioinsumo derivado de suelos supresivos frente al patógeno *P. variabilis*, utilizando el método de doble cultivo.

Figura 9

Monitoreo del efecto antagonista in vivo del bioinsumo contra P.variablis



Nota. **(A)** Crecimiento libre del patógeno sin bioinsumo. **(B)** Bioinsumo sin presencia del patógeno. **(C)** Bioinsumo inoculado 24 h antes del patógeno; inhibición total del crecimiento. **(D)** Patógeno inoculado 24 h antes del bioinsumo; el bioinsumo colonizó completamente el medio y no permitió el desarrollo del patógeno.

Cuando se aplica un bioinsumo en condiciones *in vitro*, los microorganismos benéficos controlan al patógeno principalmente a través de competencia por espacio y nutrientes. Estos microorganismos, al presentar un tiempo de crecimiento más rápido, colonizan primero el medio y restringen físicamente el desarrollo del patógeno. Además, secretan metabolitos secundarios como antibióticos, sideróforos y enzimas hidrolíticas (quitinasas, proteasas, glucanasas), que afectan directamente la integridad celular del patógeno o bloquean su metabolismo esencial **(Compant et al., 2005).** Por ejemplo, los sideróforos capturan el hierro disponible en el medio, limitando este micronutriente esencial para el desarrollo de hongos y bacterias patógenas **(Loper et al., 2007).** Asimismo, la producción de compuestos orgánicos volátiles, como alcoholes y cetonas, permite una acción inhibitoria a distancia sin contacto directo, lo que refuerza el efecto antagonista **(Ryu et al., 2003).** Estos mecanismos combinados permiten que el microorganismo benéfico domine rápidamente el entorno, lo modifique químicamente y suprima al patógeno de manera eficiente.

La Figura 9 presenta los resultados del ensayo de antagonismo i*n vitro* entre un bioinsumo microbiano, desarrollado a partir de suelos supresivos, y el oomiceto *P. variabilis*, este ensayo basado en el método de doble cultivo permitió evaluar cómo varía la respuesta del patógeno ante diferentes tiempos de inoculación del bioinsumo. Los resultados demuestran una inhibición diferencial del crecimiento del patógeno dependiendo del orden de aplicación, lo que pone en evidencia la relevancia ecológica de la dinámica competitiva microbiana en entornos controlados **(Jiang et al., 2018)**

En la Figura 9A, donde se inoculó únicamente *P. variabilis*, se observó un crecimiento libre, expansivo y sin interferencias, confirmando su capacidad colonizadora en condiciones sin antagonismo. Este resultado era esperado, dado que el patógeno se desarrolla con rapidez en medios nutritivos y estériles. Estudios como el de **Danielsen & Ames., (2000)** ya han documentado el comportamiento agresivo de *P. variabilis* en condiciones *in vitro*, donde puede formar estructuras de dispersión como esporangios y zoosporas en tan solo 48 horas sobre medios propicios. Esta condición sirvió como control positivo, demostrando la viabilidad y agresividad del patógeno cuando no se encuentra en presencia de microorganismos antagonistas.

La Figura 9B, que muestra el crecimiento del bioinsumo sin presencia del patógeno, fue el control negativo. No se evidenció crecimiento fúngico, lo que indica que el bioinsumo está libre de contaminaciones o microorganismos indeseables. La pureza microbiológica de un bioinsumo es un criterio fundamental para su aplicación, ya que su estabilidad y especificidad determinan la inocuidad y eficacia del producto. Tal como señala **Mendes et al. (2011),** los suelos supresivos contienen microorganismos que coexisten de manera estable y ejercen efectos beneficiosos en la rizosfera sin provocar desequilibrios, lo que puede ser aprovechado en bioformulaciones comerciales.

En la Figura 9C, se inoculó primero el bioinsumo y, 24 horas después, el patógeno. Los resultados evidencian una inhibición total del crecimiento de *P. variabilis*. Esta respuesta sugiere que la colonización anticipada del medio por parte de los microorganismos del bioinsumo generó una exclusión competitiva, evitando el establecimiento del patógeno. Según **Berendsen et al. (2012),** cuando los microorganismos benéficos logran establecerse primero, desarrollan una red microbiana sinérgica que impide físicamente la colonización de patógenos y modifica químicamente el entorno para hacerlo hostil. Este fenómeno se conoce como "colonización protectora" y ha sido exitosamente replicado en múltiples cultivos con diferentes bioinsumos.

Por el contrario, en la Figura 9D, el patógeno fue inoculado primero y, tras 24 horas, se aplicó el bioinsumo. Aunque el bioinsumo se introdujo con desfase temporal, logró limitar el desarrollo de *P. variabilis*, lo que se evidenció en una reducción parcial del crecimiento. Esto sugiere que, si bien el patógeno logró iniciar su colonización, los microorganismos benéficos del bioinsumo fueron capaces de interferir en su avance mediante mecanismos de competencia y producción de compuestos antimicrobianos. Según **Raaijmakers & Mazzola (2012),** incluso cuando el patógeno se establece primero, algunos agentes de biocontrol pueden inhibir su progresión si logran activarse a tiempo y modificar el entorno de manera hostil para su crecimiento.

3.2.3 Antagonismo microbiano e inhibición de *P. variabilis*

La Tabla 8 muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento de *P. variabilis*

Tabla 7

Porcentaje de inhibición de P. variabilis

	Descripción	**% de inhibición**
Bioinsumo antes del patógeno	El bioinsumo fue inoculado 24 h antes que *P. variabilis*	100%
Patógeno antes del bioinsumo	*P. variabilis* fue inoculado 24 h antes que el bioinsumo	100%

Nota. En ambas se registró una inhibición del 100%, ya que el bioinsumo impidió por completo el desarrollo del patógeno No se calcularon áreas de inhibición debido a la supresión total del crecimiento del patógeno en ambas condiciones.

El resultado de inhibición total (100%) de *P. variabilis* que se muestra en la Tabla 8, donde el bioinsumo fue aplicado antes y después del patógeno respectivamente, destaca la eficacia de los tres medios de cultivo derivado de suelos supresivos. Este nivel de supresión completa es notable, especialmente cuando se compara con estudios previos que reportan inhibiciones parciales frente a patógenos similares. Por ejemplo, **(Virgen et al., 2020)** evaluaron cepas de *Bacillus* y *Burkholderia* contra *Phytophthora cinnamomi*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum* sp., obteniendo porcentajes de inhibición que oscilaron entre el 33.2% y el 70.24% en confrontaciones *in vitro*. Estos resultados, no alcanzan la supresión total observada en el presente estudio, lo que sugiere que la diversidad y sinergia del consorcio microbiano utilizado puede ofrecer ventajas significativas en el control de oomicetos.

Además, investigaciones sobre el control del mildiu en quinua mediante inductores de defensa, como las realizadas por **(Aguilar et al., 2020)** han demostrado reducciones en la severidad de la enfermedad, pero no una inhibición completa del patógeno. Estos hallazgos refuerzan la idea de que la aplicación de consorcios microbianos derivados

de suelos supresivos puede ser una estrategia más eficaz para el manejo de enfermedades como el mildiu, ofreciendo una alternativa sostenible y potencialmente más efectiva que los métodos tradicionales.

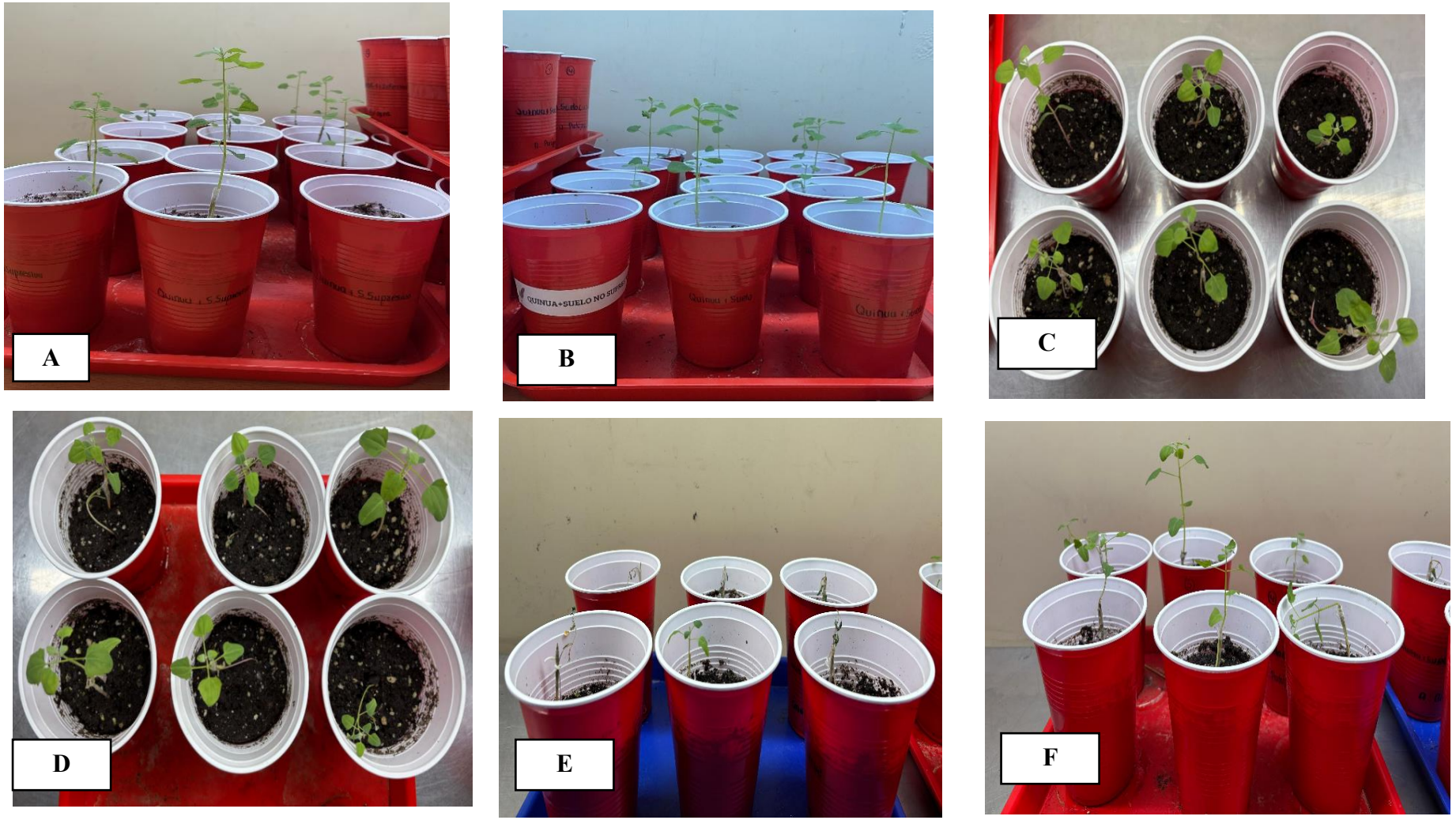
3.2.4 Capacidad biocontroladora *in vivo*

3.2.4.1 Monitoreo del desarrollo de la infección

En la Figura 10, se muestran los tratamientos aplicados a las plántulas de quinua en función de la combinación entre tipo de suelo (supresivo o conductivo), presencia o ausencia del patógeno y el orden de aplicación del bioinsumo.

Figura 10

Monitoreo de la infección in vivo



Nota **A.** Control de A (suelo supresivo sin patógeno **B**. Control de B (suelo conductivo sin patógeno) **C.** Suelo supresivo + patógeno + bioinsumo (bioinsumo aplicado antes del patógeno) **D.** Suelo supresivo + patógeno + bioinsumo (patógeno aplicado antes del bioinsumo) **E.** Suelo conductivo + patógeno sin bioinsumo **F.** Control de B (suelo conductivo sin patógeno)

Los tratamientos con suelo supresivo (T1A, T1B y T2) mostraron una supervivencia del 100 %, lo que evidencia una protección efectiva frente al patógeno y condiciones de estrés. Esto puede atribuirse al bioinsumo aplicado, derivado del mismo suelo, que contenía géneros microbianos clave como *Streptomyces*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Rhizobium*. **Mendes et al., (2011)** destacan que estos microorganismos poseen funciones esenciales en la promoción del crecimiento vegetal y la supresión de enfermedades a través de mecanismos como competencia, antibiosis y activación de defensas.

La alta presencia de Actinobacterias como *Streptomyces* es relevante, ya que producen compuestos antimicrobianos capaces de inhibir patógenos como *Peronospora farinosa*, causante del mildiú. **Viaene et al., (2016)** demostraron que *Streptomyces* promueve el crecimiento vegetal al tiempo que limita la proliferación de patógenos mediante la producción de antibióticos. De igual forma, **Compant et al., (2005)** señalaron que especies como *Paenibacillus* y *Bacillus* son capaces de inducir resistencia sistémica en las plantas, además de mejorar la colonización radicular bajo condiciones estresantes.

Tabla 8

Mortalidad y supervivencia de las plántulas de quinua según el tipo de tratamiento

Tratamiento	% Mortalidad	% Supervivencia
T1A (S.supresivo + patógeno + bioinsumo (bioinsumo aplicado antes del patógeno)	0,0	100
T1B (S.supresivo + patógeno + bioinsumo (patógeno aplicado antes del bioinsumo).	0,0	100
T2 (S.supresivo sin patógeno)	0,0	100
T3A (S.conductivo + patógeno + bioinsumo)	100	0,0
T3B (S. conductivo + patógeno sin bioinsumo)	83,3	16,7
T4 (S. conductivo sin patógeno)	50	50

Nota. Los valores expresan el porcentaje de mortalidad y supervivencia de plantas de quinua según tipo de suelo, presencia de patógeno y aplicación del bioinsumo.

El tratamiento T3A (suelo conductivo con patógeno y bioinsumo) se observó una mortalidad del 100 %, lo que indica que la funcionalidad del bioinsumo fue anulada en ausencia del soporte ecológico del suelo supresivo. **Santhanam et al., (2015)** afirman que la eficacia de los microorganismos benéficos depende de su capacidad de establecerse en la rizosfera, la cual está condicionada por las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo receptor. Además, **Raaijmakers & Mazzola (2016**), señalaron que la estructura microbiana del suelo influye directamente en la expresión funcional del bioinoculante.

El tratamiento T3B (suelo conductivo + patógeno sin bioinsumo) presentó una mortalidad del 83,3 %, mientras que T4 (suelo conductivo sin patógeno) mostró un 50 % de supervivencia. Estos resultados indican que el suelo conductivo, por sí solo, representa un entorno desfavorable para el establecimiento vegetal, incluso sin

patógenos presentes. **Mazzola & Freilich (2017),** explicaron que este tipo de suelos carece de comunidades microbianas supresoras y favorece la proliferación de microorganismos patogénicos o neutrales sin beneficios agronómicos.

Entre los géneros identificados en el suelo supresivo destacan *Pseudomonas* y *Burkholderia*, conocidos por su capacidad de competir eficazmente en la rizosfera y desplazar patógenos. **Berendsen et al., (2012)** reportaron que estas bacterias pueden formar biofilms protectores, producir sideróforos y desencadenar respuestas de defensa inducida en las plantas. Además, **Lugtenberg & Kamilova (2009),** indicaron que estas especies también mejoran la disponibilidad de nutrientes y estimulan el desarrollo radicular, aumentando así la tolerancia a factores de estrés.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.2 Conclusiones

- Los suelos supresivos mostraron condiciones físicas y químicas que favorecen el control natural de enfermedades. Su pH ligeramente más ácido, el mayor contenido de carbono y nitrógeno, y la presencia de microorganismos benéficos como *Streptomyces, Burkholderia, Bacillus* y *Pseudomonas* ayudaron a limitar el desarrollo del patógeno. Estos factores demostraron que la salud del suelo y su microbiota juegan un papel clave en la supresión de *P. variabilis*, haciendo del suelo una herramienta activa en el manejo biológico de la enfermedad.

- El bioinsumo preparado a partir del suelo supresivo tuvo un efecto altamente eficaz contra *Peronospora variabilis in vitro*. Logró inhibir por completo el crecimiento del patógeno, sin importar si se aplicaba antes o después de la infección. Esto se debe a la acción conjunta de las bacterias presentes, que compiten por nutrientes, liberan sustancias antimicrobianas y crean un entorno hostil para el hongo. El resultado confirma que los bioinsumos desarrollados desde un suelo funcional pueden convertirse en una alternativa real frente a los fungicidas químicos.

- En condiciones de invernadero, las plantas de quinua que crecieron en suelo supresivo con bioinsumo no presentaron infección y mantuvieron una supervivencia del 100 %. En cambio, en suelos conductivos, incluso con bioinsumo, la mortalidad fue total. Esto demuestra que el éxito del tratamiento no depende solo del bioinsumo, sino también del tipo de suelo en el que se aplica. El suelo supresivo actúa como un soporte vital para que los microorganismos benéficos se establezcan, interactúen con la planta y activen sus defensas.

- El uso de suelos supresivos, junto con bioinsumos derivados, representa una estrategia eficiente y sostenible para proteger la quinua contra el mildiu. Esta

combinación reduce la dependencia de químicos, mejora la salud del suelo y promueve una agricultura más ecológica y resiliente. Además de controlar eficazmente la enfermedad, este enfoque fortalece el agroecosistema y ofrece una solución práctica y accesible para pequeños productores que buscan alternativas más seguras y naturales

4.3 Recomendaciones

- Se recomienda complementar la identificación del patógeno con secuenciación molecular, lo que facilitaría una identificación más precisa y fiable del patógeno de interés.

- Aunque la concentración del bioinsumo fue estimada visualmente usando el estándar McFarland 1.0 (~3×10^8 UFC·ml^{-1}), se recomienda realizar estudios con diferentes concentraciones y validación por recuento en placa para optimizar su aplicación.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias bibliográficas

Aguilar, R., More-Yarleque, M. M., Rafael-Rutte, R., & Maldonado, E. (2020). Defense inductors in the control of mildew (*Peronospora variabilis* Gaum.) in the quinoa crop: Detection, epidemiology, symptoms, characteristics and control. Scientia Agropecuaria, 11(4), 555–563. https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2020.04.11

Assiuty, E., Taha, E., Fahmy, Z., & Fahmy, G. (2019). Histological and Molecular Detections of *Peronospora variabilis* Gäum Oospores in Seeds of Quinoa (*Chenopodium quinoa* L.). THE EGYPTIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY (Botany), 0, 1. https://doi.org/10.5455/egyjebb.20190620115158

Bazile, D. (2021). Quinoa, A Model Crop for Tomorrow's Agriculture. In: Varma, A. (eds) Biology and Biotechnology of Quinoa. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3832-9_18

Beccari, G., Quaglia, M., Tini, F., Pannacci, E., & Covarelli, L. (2021). Phytopathological Threats Associated with Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Cultivation and Seed Production in an Area of Central Italy. Plants, 10(9), 1933. https://doi.org/10.3390/plants10091933

Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. Trends in Plant Science, 17(8), 478–486. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001

Bhaik, A., Mboup, M. K., & Genet, J.-L. (2022). Fungicide Resistance: Threats and Management Approaches. In Sustainable Management of Potato Pests and Diseases (pp. 59–81). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7695-6_3

Bokhari, A., Essack, M., Lafi, F. F., Andres-Barrao, C., Jalal, R., Alamoudi, S., Razali, R., Alzubaidy, H., Shah, K. H., Siddique, S., Bajic, V. B., Hirt, H., & Saad, M. M. (2019). Bioprospecting desert plant Bacillus endophytic strains for their potential to enhance plant stress tolerance. Scientific Reports, 9(1), 18154. https://doi.org/10.1038/s41598-019-54685-y

Breithaupt, J. L., Steinmuller, H. E., Rovai, A. S., Engelbert, K. M., Smoak, J. M., Chambers, L. G., Radabaugh, K. R., Moyer, R. P., Chappel, A., Vaughn, D. R., Bianchi, T. S., Twilley, R. R., Pagliosa, P., Cifuentes-Jara, M., & Torres, D. (2023). An Improved Framework for Estimating Organic Carbon Content of Mangrove Soils Using loss-on-ignition and Coastal Environmental Setting. Wetlands, 43(6), 57. https://doi.org/10.1007/s13157-023-01698-z

Brunelle, B. (2020). Soil microbiology laboratory manual (Ed. Université Laval). https://www.ulaval.ca/

Calderón-González, Á., Matías, J., Cruz, V., Molinero-Ruiz, L., & Fondevilla, S. (2023). Identification and Characterization of Sources of Resistance to *Peronospora variabilis* in Quinoa. Agronomy, 13(2), 284. https://doi.org/10.3390/agronomy13020284

Calderón-González, Á., Matías, J., Cruz, V., Molinero-Ruiz, L., & Fondevilla, S. (2023b). Identification and Characterization of Sources of Resistance to *Peronospora variabilis* in Quinoa. Agronomy, 13(2). https://doi.org/10.3390/agronomy13020284

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nature Methods, 13(7), 581–583. https://doi.org/10.1038/nmeth.3869

Chapelle, E., Mendes, R., Bakker, P. A. H. M., & Raaijmakers, J. M. (2016). Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. The ISME Journal, 10(1), 265–268. https://doi.org/10.1038/ismej.2015.82

Chávez-Centeno, V., Mancilla-Condor, J. L., & Carbajal-Cuadros, L. N. (2024). Mildiu de la quinua (*Peronospora variabilis*): Una revisión sobre respuesta y

tratamiento de la enfermedad. Agronomía Mesoamericana, 54209. https://doi.org/10.15517/am.2024.54209

Colque-Little, C., Abondano, M. C., Lund, O. S., Amby, D. B., Piepho, H.-P., Andreasen, C., Schmöckel, S., & Schmid, K. (2021). Genetic variation for tolerance to the downy mildew pathogen *Peronospora variabilis* in genetic resources of quinoa (*Chenopodium quinoa*). BMC Plant Biology, 21(1), 41. https://doi.org/10.1186/s12870-020-02804-7.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology, 71*(9), 4951–4959. https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005

Condori-Pacsi, S. J., Fernández-Guzman, P. R., & Valderrama-Valencia, M. R. (2019). Isolation and characterization of *Streptomyces* spp rizospheres promoters of vegetable growth. Idesia (Arica), 37(2), 109–116. https://doi.org/10.4067/S0718-34292019000200109

El-Harty, E. H., Khan, M. A., Seleiman, M. F., Afzal, M., & Alghamdi, S. S. (2023). Water use efficiency (WUE) and productivity of promising quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) genotypes grown under three water regimes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 51(2). https://doi.org/10.15835/nbha51213209

FAO/IIASA/ISRIC/ISSCAS/JRC. (2012). Harmonized World Soil Database (version 1.2). FAO. https://data.apps.fao.org/catalog/dataset/3607167d-926d-47d8-b466-3bda654e7834

Franzluebbers, A. J., & Haney, R. L. (2018). Evaluation of soil processing conditions on mineralizable C and N across a textural gradient. Soil Science Society of America Journal, 82(2), 354–361. https://doi.org/10.2136/sssaj2017.08.0275

Gómez Expósito, R., de Bruijn, I., Postma, J., & Raaijmakers, J. M. (2017). Current Insights into the Role of Rhizosphere Bacteria in Disease Suppressive Soils. Frontiers in Microbiology, 8. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02529

González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2022). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas, 25. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520

Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J., Mäder, P., & Widmer, F. (2015). Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. The ISME Journal, 9(5), 1177–1194. https://doi.org/10.1038/ismej.2014.210

Hernández Arboláez, H. P., Aguila Alcantara, E., Castillo Pereda, B. L., & Ruiz González, Y. (2021). Cultivation management of common bean and its effect on the suppressive potential of brown calcareous soils on Rhizoctonia solani. Revista de La Sociedad Cubana de Fitopatología.

Jayaraman, S., Naorem, A. K., Lal, R., Dalal, R. C., Sinha, N. K., Patra, A. K., & Chaudhari, S. K. (2021). Disease-Suppressive Soils—Beyond Food Production: a Critical Review. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 21(2), 1437–1465. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00451-x

Jiang, Y., Qian, H., Wang, X., Chen, L., Liu, M., Li, H., & Sun, B. (2018). Nematodes and microbial community affect the sizes and turnover rates of organic carbon pools in soil aggregates. Soil Biology and Biochemistry, 119, 22–31. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.001

Kara, M., Soylu, E. M., Uysal, A., Kurt, Ş., Choi, Y.-J., & Soylu, S. (n.d.). Morphological and molecular characterization of downy mildew disease caused by Peronospora variabilis on Chenopodium album in Turkey. https://doi.org/10.1007/s13314-020-0381-2/Published

Khaled, F., & Sayed, A. (2023). Soil pH and its influence on nutrient availability and plant health. International Journal of Advanced Chemistry Research, 5(2), 68–70. https://doi.org/10.33545/26646781.2023.v5.i2a.204

Khalifa, W., Khalil, H. B., & Thabet, M. (2024). Unraveling Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Defense Against Downy Mildew (*Peronospora variabilis*): Comparative Molecular Analysis of Resistant “Hualhuas” and Susceptible

"Real" Cultivars. Plants, 13(23), 3344. https://doi.org/10.3390/plants13233344

Khan, S., Srivastava, S., Karnwal, A., & Malik, T. (2023). *Streptomyces* as a promising biological control agents for plant pathogens. Frontiers in Microbiology, 14. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1285543

Khatri, S., Bhattacharjee, A., Shivay, Y. S., & Sharma, S. (2024). Transplantation of soil from organic field confers disease suppressive ability to conducive soil. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 40(4), 112. https://doi.org/10.1007/s11274-024-03895-2

Kloepper, J. W., Ryu, C. M., & Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology, 94*(11), 1259–1266. https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259

Koutika, L.-S., Dassonville, N., Vanderhoeven, S., Chapuis-Lardy, L., & Meerts, P. (2008). Relationships between C respiration and fine particulate organic matter (250–50μm) weight. European Journal of Soil Biology, 44(1), 18–21. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.10.006

Kremer, R. J. (2019). Sampling and handling of soil to identify microorganisms with impacts on plant growth. En K. G. Mukerji & A. K. Upadhyay (Eds.), Microbiomes of soils, plants and animals: An integrated approach (pp. 237–246). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9458-8_21

Kwak, Y.-S., & Weller, D. M. (2013). Take-all of Wheat and Natural Disease Suppression: A Review. The Plant Pathology Journal, 29(2), 125–135. https://doi.org/10.5423/PPJ.SI.07.2012.0112

Lammel, D. R., Barth, G., Ovaskainen, O., Cruz, L. M., Zanatta, J. A., Ryo, M., de Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2018). Direct and indirect effects of a pH gradient bring insights into the mechanisms driving prokaryotic community structures. Microbiome. 106. https://doi.org/10.1186/s40168-018-0482-8

Lee, J., Kim, S., Jung, H., Koo, B.-K., Han, J. A., & Lee, H.-S. (2023). Exploiting Bacterial Genera as Biocontrol Agents: Mechanisms, Interactions and

Applications in Sustainable Agriculture. Journal of Plant Biology, 66(6), 485–498. https://doi.org/10.1007/s12374-023-09404-6

Lemanceau, P., Blouin, M., Muller, D., & Moënne-Loccoz, Y. (2017). Let the Core Microbiota Be Functional. Trends in Plant Science, 22(7), 583–595. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.04.008

Leon, B., Mendoza Coari, P. P., & Palao Iturregui, L. A. (2022). Effective microorganisms and *Trichoderma sp.Trichoderma* sp. in the biocontrol of downy mildew (*Peronospora variabilis*) in quinoa cultivation. Acta Agronómica, 70(4). https://doi.org/10.15446/acag.v70n4.95351

Liu, H., Zhang, H., & Wang, S. (2025). Development of an Evaluation Indicator System for Medium–Low Yield Farmlands on the Basis of the Synergistic Improvement of Soil Carbon Sequestration and Production Capacity: A Theoretical Framework. Agronomy, 15(5), 1086. https://doi.org/10.3390/agronomy15051086

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology, 63*, 541–556. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918

Lv, N., Ravanbakhsh, M., Ling, S., Ou, Y., Tao, C., Liu, H., Li, R., Shen, Z., & Shen, Q. (2024). Harnessing key bacteria from suppressive soil to mitigate banana Panama disease. *Biology and Fertility of Soils*, 60(6), 845–862. https://doi.org/10.1007/s00374-024-01836-7.

Maphuhla, I., Malherbe, J., Modi, A. T., & Mabhaudhi, T. (2020). Soil water content determination methods and influences on water use efficiency in crops. Agricultural Water Management, 232, 106048. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106048

Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnet.journal, 17(1), 10–12. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200 (Versión consultada: v5.1, disponible en https://cutadapt.readthedocs.io/)

Martínez-Hidalgo, P., & Hirsch, A. M. (2017). The Nodule Microbiome: N2-Fixing Rhizobia Do Not Live Alone. Phytobiomes Journal, 1(2), 70–82. https://doi.org/10.1094/PBIOMES-12-16-0019-RVW

Mazzola, M., & Freilich, S. (2017). Prospects for biological soilborne disease control: Application of indigenous versus synthetic microbiomes. *Phytopathology, 107*(3), 256–263. https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-16-0293-RVW

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. PLoS ONE, 8(4), e61217. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217

Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2011). The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews, 37*(5), 634–663. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00362.x

Mendes, R., Kruijt, M., de Bruijn, I., Dekkers, E., van der Voort, M., Schneider, J. H. M., Piceno, Y. M., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Bakker, P. A. H. M., & Raaijmakers, J. M. (2011). Deciphering the Rhizosphere Microbiome for Disease-Suppressive Bacteria. Science, 332(6033), 1097–1100. https://doi.org/10.1126/science.1203980

Michałowski, T., Gęca, J., Gęca, M., Wójcik, R., & Szymańska, S. (2013). Optimized protocol for the Kjeldahl method of nitrogen determination in environmental samples. Environmental Monitoring and Assessment, 185(11), 9821–9828. https://doi.org/10.1007/s10661-013-3290-6

NEBIE, L., DAO, A., DABIRE, T. G., BONZI, S., SANOU, J., & SOMDA, I. (2024). Diagnosis of fungal diseases in quinoa (Chenopodium quinoa Willd) in Burkina Faso. Scientific Reports, 14(1), 24074. https://doi.org/10.1038/s41598-024-71839-9Peralta, E. (2009). LA QUINUA EN ECUADOR “Estado del Arte.” INIAP.

Oni, F. E., Geudens, N., Onyeka, J. T., Olorunleke, O. F., Salami, A. E., Omoboye, O. O., Arias, A. A., Adiobo, A., De Neve, S., Ongena, M., Martins, J. C., & Höfte, M. (2020). Cyclic lipopeptide-producing *Pseudomonas koreensis*

group strains dominate the cocoyam rhizosphere of a Pythium root rot suppressive soil contrasting with P. putida prominence in conducive soils. Environmental Microbiology, 22(12), 5137–5155. https://doi.org/10.1111/1462-2920.15127

Pavlovska, G., Stoyanova, M., Mitrev, S., & Stefova, M. (2021). Methodological approaches for soil microbial community analysis: From sampling to data interpretation. Applied Soil Ecology, 163, 103912. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103912

Peralta, E. (2009). LA QUINUA EN ECUADOR "Estado del Arte." INIAP.

Posit Team. (2025). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC. https://posit.co/download/rstudio-desktop/

Postma, J., Schilder, M. T., Bloem, J., & van Leeuwen-Haagsma, W. K. (2008). Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. Soil Biology and Biochemistry, 40(9), 2394–2406. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.023

Puerto Rodríguez, del, Tamayo, S., & Estrada, P. (n.d.). Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223240764010

Pulvento, C., & Bazile, D. (2023). Worldwide Evaluations of Quinoa—Biodiversity and Food Security under Climate Change Pressures: Advances and Perspectives. In Plants (Vol. 12, Issue 4). MDPI. https://doi.org/10.3390/plants12040868

R Core Team. (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. https://www.r-project.org/

Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. (2016). Soil immune responses. *Science, 352*(6292), 1392–1393. https://doi.org/10.1126/science.aaf3252

Ramírez Maguiña, H. A., Mattos Calderón, L. L., & Risco Mendoza, A. (2020). Severidad de *Peronospora variabilis* Gäum. en cinco variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. en condiciones de La Molina. Anales Científicos, 81(2), 415. https://doi.org/10.21704/ac.v81i2.1684

Reyna-Bowen, L., Vera-Montenegro, L., & Reyna, L. (2018). Soil-Organic-Carbon Concentration and Storage under Different Land Uses in the Carrizal-Chone Valley in Ecuador. Applied Sciences, 9(1), 45. https://doi.org/10.3390/app9010045

Rollano-Peñaloza, O. M., Palma-Encinas, V., Widell, S., Mollinedo, P., & Rasmusson, A. G. (2022). The Disease Progression and Molecular Defense Response in Chenopodium Quinoa Infected with Peronospora Variabilis, the Causal Agent of Quinoa Downy Mildew. Plants, 11(21), 2946. https://doi.org/10.3390/plants11212946

Ruano, D., & Mercado, J. (2015). Combining Biocontrol Agents and Organics Amendments to Manage Soil-Borne Phytopathogens (pp. 457–478). https://doi.org/10.1007/978-3-319-23075-7_22

Santhanam, R., Luu, V. T., Weinhold, A., Goldberg, J., Oh, Y., & Baldwin, I. T. (2015). Native root-associated bacteria rescue a plant from a sudden-wilt disease that emerged during continuous cropping. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 112*(36), E5013–E5020. https://doi.org/10.1073/pnas.1505765112

Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D., & Paulitz, T. (2017). Disease Suppressive Soils: New Insights from the Soil Microbiome. Phytopathology®, 107(11), 1284–1297. https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-17-0111-RVW

Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., ... & Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. Applied and Environmental Microbiology, 75(23), 7537–7541. https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09

Schmitz, L., Yan, Z., Schneijderberg, M., de Roij, M., Pijnenburg, R., Zheng, Q., Franken, C., Dechesne, A., Trindade, L. M., van Velzen, R., Bisseling, T., Geurts, R., & Cheng, X. (2022). Synthetic bacterial community derived from a desert rhizosphere confers salt stress resilience to tomato in the presence of

a soil microbiome. The ISME Journal, 16(8), 1907–1920. https://doi.org/10.1038/s41396-022-01238-3

Schoch, C. L., Ciufo, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database, 2020. https://doi.org/10.1093/database/baaa062.

SENASA. (2020). *Alerta fitosanitaria: Mildiú de la quinua (Peronospora variabilis)*. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Argentina. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/senasa

Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G. P. S., Handa, N., Kohli, S. K., Yadav, P., Bali, A. S., Parihar, R. D., Dar, O. I., Singh, K., Jasrotia, S., Bakshi, P., Ramakrishnan, M., Kumar, S., Bhardwaj, R., & Thukral, A. K. (2019). Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. SN Applied Sciences, 1(11), 1446. https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1

Shen, H., Wang, H., Zhang, M., Liu, J., & Li, Y. (2024). Application of plant–microbe interactions in crop disease management: Recent advances and perspectives. Frontiers in Plant Science, 15, 123456. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.123456

Souza, F. A., Silva, V. G. da, & Bitencourt, T. B. (2020). Use of McFarland Standards and Spectrophotometry for Yarrowia Lipolytica QU69 cell counting. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology, 5(4), 1089–1091. https://doi.org/10.22161/ijeab.54.30

Taaime, N., Rafik, S., El Mejahed, K., Oukarroum, A., Choukr-Allah, R., Bouabid, R., & El Gharous, M. (2023). Worldwide development of agronomic management practices for quinoa cultivation: a systematic review. Frontiers in Agronomy, 5. https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1215441

Testen, A. L., McKemy, J. M., & Backman, P. A. (2013). First Report of Passalora Leaf Spot of Quinoa Caused by *Passalora dubia* in the United States. Plant Disease, 97(1), 139–139. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-12-0472-PDN

Viaene, T., Langendries, S., Beirinckx, S., Maes, M., & Goormachtig, S. (2016). *Streptomyces* as a plant growth-promoting bacterium: Lessons from the tomato root microbiome. *Frontiers in Plant Science, 7*, 1446. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01446

Virgen, E., Orlando, M., Dios Avila, D., Velasco, R., & Esquivel, L. (2020). *Corresponding Author. REVISTA BIO CIENCIAS, 7, https://doi.org/10.15741/revbio.07.e803

Wang, C., Zhou, X., Guo, D., Zhao, J., Yan, L., Feng, G., Gao, Q., Yu, H., & Zhao, L. (2019). Soil pH is the primary factor driving the distribution and function of microorganisms in farmland soils in northeastern China. Annals of Microbiology. https://doi.org/10.1007/s13213-019-01529-9

Wickham, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York. https://ggplot2.tidyverse.org/

Yin, C., Hulbert, S. H., Schroeder, K. L., Mavrodi, O., Mavrodi, D., Dhingra, A., Schillinger, W. F., & Paulitz, T. C. (2013). Role of Bacterial Communities in the Natural Suppression of Rhizoctonia solani Bare Patch Disease of Wheat (Triticum aestivum L.). Applied and Environmental Microbiology, 79(23), 7428–7438. https://doi.org/10.1128/AEM.01610-13

Zouari, M., Rjeibi, W., & Hachicha, M. (2025). The Agro-Physiological and Phytochemical Potential of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Under Saline Stress: A Comprehensive Investigation of Nutritional Properties and Antioxidant Activities. Plants, 14(10), 1482. https://doi.org/10.3390/plants14101482

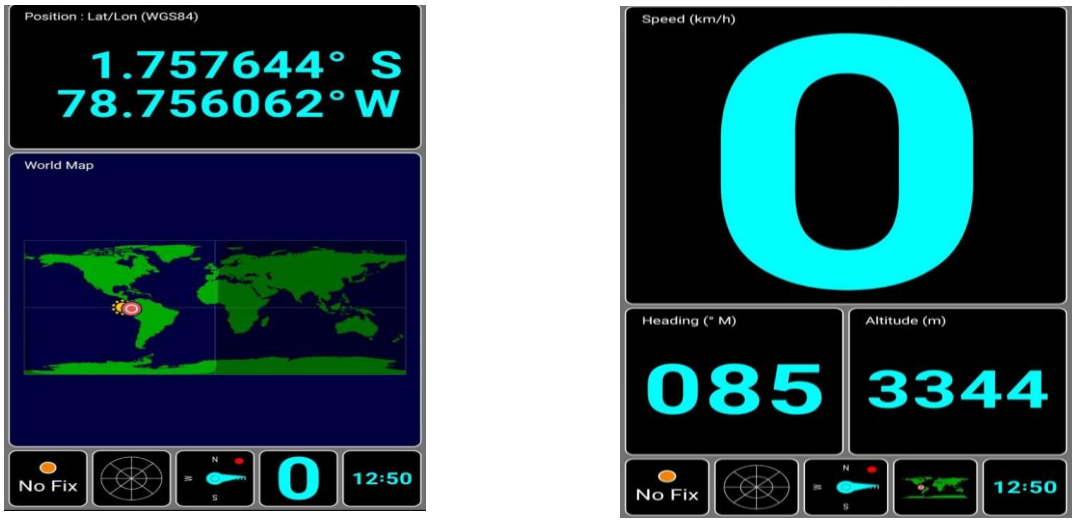
Zurita-Silva, A., Fuentes, F., Zamora, P., Jacobsen, S. E., & Schwember, A. R. (2014). Breeding quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Potential and perspectives. In Molecular Breeding (Vol. 34, Issue 1, pp. 13–30). Kluwer Academic Publishers. https://doi.org/10.1007/s11032-014-0023-5

ANEXOS

Anexo 1

Coordenadas geográficas y datos altimétricos de los sitios de muestreo del suelo

A **B**



Nota. **A**. Coordenadas geográficas y punto de ubicación marcado. **B.** Dirección y altitud.

Anexo 2

Toma de muestras de los suelos

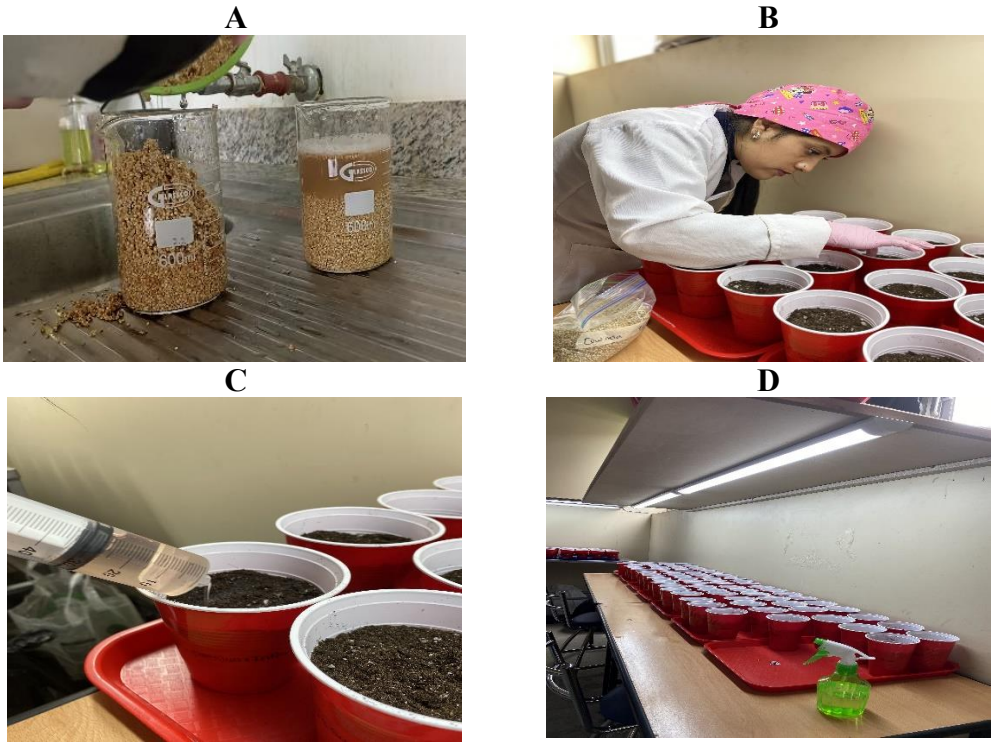
A **B**



Nota. **A**. Suelo conductivo. **B.** Suelo supresivo

Anexo 3

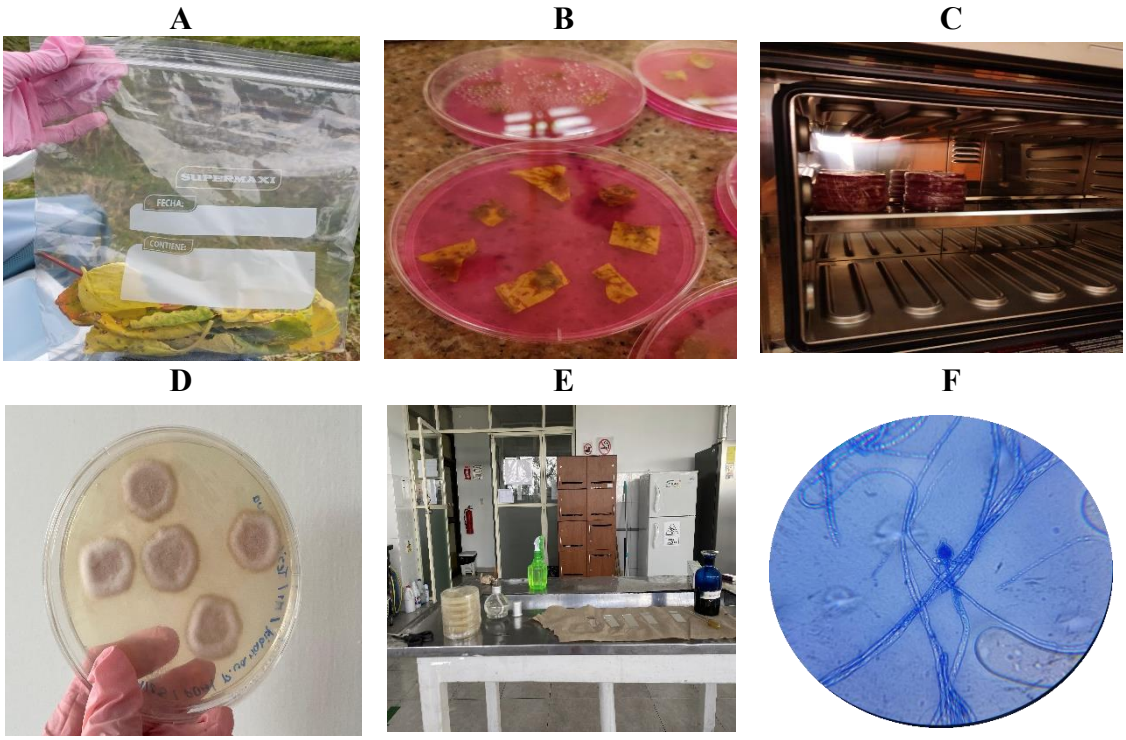
Plántulas de quinua a nivel de invernadero



Nota. **A.** Desinfección de semillas. **B.** Siembra de semillas en 48 vasos. **C.** Riego con solución de Hoagland (50 ml por vaso). **D.** Plántulas de quinua en cuatro tratamientos.

Anexo 4

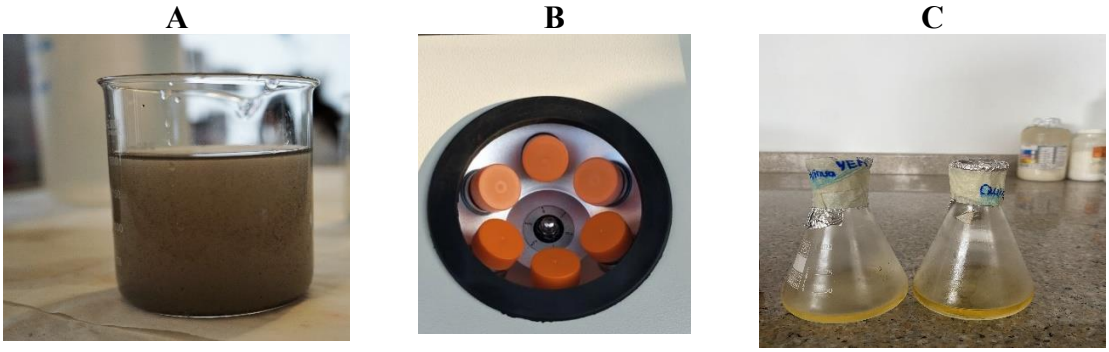
Aislamiento y purificación de P. variabilis



Nota. **A.** Recolección de hojas con síntomas visibles de mildiu. **B.** Fragmentos sembrados en medio Rosa de Bengala. **C.** Incubación en condiciones controladas**. D.** Subcultivo en medio PDA**. E.** Tinción con azul de lactofenol**. F.** Observación microscópica de estructuras de *P. variabilis***.**

Anexo 5

Elaboracion del bioinsumo



D **E** **F**



Nota. **A.** Suspensión de 10 g de suelo supresivo en 90 mL de solución PBS en reposo. **B.** Centrifugación en tubos Falcon para obtención del sobrenadante. **C.** Controles de los medios TSB y YEM. **D.** Cultivo de cepas en TSB 1/10 (crecimiento rápido), TSB 1/2 (crecimiento lento) y YEM (rizobios). **E.** Mezcla equimolar de cepas con concentración final de 5×10^8 UFC·mL^{-1} **F.** Bioinsumo listo para su aplicación.

Anexo 6

Controles del efecto antagonista del bioinsumo contra P. variabilis

A **B**



Nota. **A.** P. variabilis. **B.** Bioinsumo.

Anexo 7

Monitero de la infección P.variabilis in vivo

A **B**



Nota. **A.** Infección con *Peronospora variabilis* sin aplicación de bioinsumo. **B.** Infección con *P. variabilis* y aplicación del bioinsumo.

Anexo 8

Prueba t de Student aplicada para el contenido de pH de las muestras suelos

	SS	*SC*
Media	6,0755	6,47475
Varianza	1,63333E-05	0,001143583
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	0,000579958	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-23,44560943	
P(T<=t) una cola	1,97482E-07	
Valor crítico de t (una cola)	1,943180281	
P(T<=t) dos colas	3,94963E-07	
Valor crítico de t (dos colas)	2,446911851	

Anexo 9

Prueba t de Student aplicada para el contenido de carbono de las muestras suelos

	SS	*SC*
Media	5,41	4,0925
Varianza	0,008466667	0,387558333
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	0,1980125	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	4,187157703	
P(T<=t) una cola	0,002883716	
Valor crítico de t (una cola)	1,943180281	
P(T<=t) dos colas	0,005767431	
Valor crítico de t (dos colas)	2,446911851	

Anexo 10

Prueba t de Student aplicada para el contenido de nitrógeno de las muestras suelos

	SS	*SC*
Media	0,505	0,4525
Varianza	0,000966667	9,1667E-05
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	0,000529167	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	3,227587773	
P(T<=t) una cola	0,008982444	
Valor crítico de t (una cola)	1,943180281	
P(T<=t) dos colas	0,017964889	
Valor crítico de t (dos colas)	2,446911851	

Anexo 11

Lecturas de absorbancia (OD_{600}) de los tres cultivos: TSB 1/10, TSB ½ y YEM

Medio	Réplica	Absorbancia *(OD_{600})*
YEM (blanco)	0	0,000
YEM	1	0,076
YEM	2	0,060
YEM	3	0,044
TSB ½ (blanco)	0	0,000
TSB ½	1	0,053
TSB ½	2	0,055
TSB ½	3	0,043
TSB 1/10 (blanco)	0	0,000
TSB 1/10	1	0,050
TSB 1/10	2	0,039
TSB 1/10	3	0,049

Nota. El medio YEM presentó la mayor densidad celular promedio ($OD_{600} \approx 0,060$), seguido de TSB ½ (≈ 0,050) y TSB 1/10 (≈ 0,046).

Anexo *12*

ASV con abundancia diferencial en suelos supresivos

ASV	Filo	Familia	Abundancia
11	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	517
52	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	317
59	Firmicutes	Bacillales_unclassified	260
39	Actinobacteriota	Micrococcaceae	249
33	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	227
69	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	227
103	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	203
91	Proteobacteria	Burkholderiaceae	196
101	Chloroflexi	KD4-96_fa	185
84	Firmicutes	Bacillaceae	172

143	Proteobacteria	Rhizobiaceae	146
57	Actinobacteriota	Micrococcaceae	144
171	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	142
102	Actinobacteriota	Micrococcaceae	139
157	Proteobacteria	Rhizobiaceae	132
180	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	132
229	Actinobacteriota	uncultured	120
100	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	109
153	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	109
158	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	105
160	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	101
18	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	98
136	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	96
233	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	94
204	Chloroflexi	KD4-96_fa	91
239	Proteobacteria	Rhizobiaceae	88
256	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	88
166	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	82
211	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	82
284	Proteobacteria	Burkholderiaceae	74
293	Proteobacteria	Burkholderiaceae	74
325	Acidobacteriota	Acidobacteriae_fa	73
264	Actinobacteriota	Gaiellaceae	71
224	Proteobacteria	Rhizobiaceae	70
237	Actinobacteriota	67-14	68
74	Proteobacteria	Enterobacteriaceae	67
312	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	64
292	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	63
398	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	63
247	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	61
279	Proteobacteria	Pseudomonadaceae	61
375	Acidobacteriota	Solibacteraceae	60
576	Proteobacteria	D05-2	60

444	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	59
489	Proteobacteria	Burkholderiaceae	59
549	Actinobacteriota	uncultured	59
364	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	58
376	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	57
349	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	55
382	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	55
412	Acidobacteriota	11-24_fa	55
547	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	55
76	Actinobacteriota	Micrococcaceae	52
451	Planctomycetota	WD2101_soil_group	51
632	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	51
316	Actinobacteriota	67-14	50
333	Acidobacteriota	uncultured	50
478	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	50
72	Proteobacteria	Enterobacteriaceae	50
221	Firmicutes	Bacillaceae	49
372	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	49
467	Proteobacteria	uncultured_fa	49
645	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	49
355	Actinobacteriota	uncultured	48
357	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	48
308	Firmicutes	Bacillaceae	46
41	Proteobacteria	Devosiaceae	46
482	Proteobacteria	Comamonadaceae	46
484	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	46
127	Firmicutes	Paenibacillaceae	45
440	Actinobacteriota	uncultured	45
215	Firmicutes	Bacillaceae	43
313	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	43
417	Actinobacteriota	Gaiellaceae	43
418	Proteobacteria	Dongiaceae	43
633	Verrucomicrobiota	Parachlamydiaceae	43

514	Acidobacteriota	Acidobacteriaceae_(Subgroup_1)	42
590	Bacteroidota	Chitinophagaceae	42
499	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	41
515	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	41
755	Proteobacteria	Methyloligellaceae	41
479	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	40
526	Acidobacteriota	Blastocatellaceae	40
528	Chloroflexi	KD4-96_fa	40
553	Proteobacteria	Alphaproteobacteria_unclassified	40
756	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	40
524	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	39
548	Acidobacteriota	uncultured	39
670	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	38
490	Acidobacteriota	Acidobacteriaceae_(Subgroup_1)	37
358	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	36
399	Acidobacteriota	uncultured	36
466	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	36
54	Proteobacteria	Devosiaceae	36
600	Bacteroidota	Chitinophagaceae	36
659	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	36
712	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	36
727	Actinobacteriota	Gaiellaceae	36
807	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	36
810	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	36
525	Proteobacteria	Burkholderiaceae	35
560	Chloroflexi	KD4-96_fa	35
400	Actinobacteriota	Streptosporangiaceae	34
456	Proteobacteria	TRA3-20	34
468	Actinobacteriota	Gaiellaceae	34
550	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	34
715	Proteobacteria	Reyranellaceae	34
778	Actinobacteriota	uncultured	34
794	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	34

809	Actinobacteriota	Geodermatophilaceae	34
850	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	34
935	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	34
988	Actinobacteriota	Gaiellaceae	34
1027	Actinobacteriota	uncultured	33
1058	Actinobacteriota	67-14	33
1253	Actinobacteriota	uncultured	33
483	Proteobacteria	Burkholderiaceae	33
516	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	33
527	Acidobacteriota	uncultured	33
792	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	33
808	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	33
867	Bacteroidota	Chitinophagaceae	33
1026	Actinobacteriota	uncultured	32
1136	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	32
1137	Planctomycetota	Pirellulaceae	32
423	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	32
934	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	32
350	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	31
447	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	31
848	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	31
870	Proteobacteria	Comamonadaceae	31
905	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	31
933	Proteobacteria	Reyranellaceae	31
1096	Planctomycetota	Pirellulaceae	30
1208	Actinobacteriota	uncultured	30
457	Planctomycetota	Isosphaeraceae	30
635	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	30
849	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	30
1133	Acidobacteriota	uncultured	29
1219	Proteobacteria	uncultured	29
561	Planctomycetota	WD2101_soil_group	29
614	Bacteroidota	Chitinophagaceae	29

728	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	29
758	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	29
886	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	29
989	Acidobacteriota	Acidobacteriaceae_(Subgroup_1)	29
1028	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	28
578	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	28
613	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	28
634	Actinobacteriota	uncultured	28
672	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	28
833	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	28
904	Planctomycetota	Pirellulaceae	28
1170	Actinobacteriota	uncultured	27
1206	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	27
1312	Chloroflexi	Gitt-GS-136_fa	27
1473	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	27
636	Proteobacteria	Burkholderiaceae	27
685	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	27
700	Actinobacteriota	Sporichthyaceae	27
991	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	27
1024	Proteobacteria	Labraceae	26
1056	Firmicutes	Paenibacillaceae	26
1138	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	26
1168	Planctomycetota	Isosphaeraceae	26
1174	Actinobacteriota	Sporichthyaceae	26
1209	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	26
1255	Actinobacteriota	Gaiellaceae	26
290	Proteobacteria	Methyloligellaceae	26
562	Actinobacteriota	Nocardiaceae	26
579	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	26
660	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	26
698	Actinobacteriota	67-14	26
714	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	26
743	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	26

745	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	26
775	Firmicutes	Paenibacillaceae	26
777	Myxococcota	bacteriap25_fa	26
811	Proteobacteria	uncultured	26
868	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	26
1171	Firmicutes	Paenibacillaceae	25
1257	Actinobacteriota	uncultured	25
1414	Actinobacteriota	Thermoleophilia_unclassified	25
1562	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	25
393	Proteobacteria	Comamonadaceae	25
500	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	25
564	Firmicutes	Paenibacillaceae	25
729	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	25
1140	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	24
1211	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	24
1258	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	24
1314	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	24
380	Proteobacteria	Rhizobiaceae	24
617	Actinobacteriota	uncultured	24
699	Bacteroidota	Chitinophagaceae	24
779	Actinobacteriota	uncultured_fa	24
906	Chloroflexi	KD4-96_fa	24
961	Actinobacteriota	67-14	24
962	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	24
1025	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	23
1055	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	23
1207	Firmicutes	Paenibacillaceae	23
1304	Actinobacteriota	Nakamurellaceae	23
1410	Acidobacteriota	Bryobacteraceae	23
22	Proteobacteria	Pseudomonadaceae	23
592	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	23
757	Acidobacteriota	uncultured	23
936	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	23

938	Proteobacteria	Acetobacteraceae	23
987	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	23
1132	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	22
1172	Actinobacteriota	Gaiellaceae	22
1173	Proteobacteria	Comamonadaceae	22
1254	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	22
1308	Proteobacteria	Rhizobiales_Incertae_Sedis	22
1406	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	22
1671	Actinobacteriota	Gaiellaceae	22
554	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	22
577	Actinobacteriota	Nocardiaceae	22
648	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	22
744	Actinobacteriota	67-14	22
793	Acidobacteriota	Bryobacteraceae	22
813	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	22
910	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	22
1095	Firmicutes	Thermoactinomycetaceae	21
1134	Actinobacteriota	uncultured	21
1263	Proteobacteria	Rhizobiaceae	21
1366	Proteobacteria	uncultured	21
1419	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	21
1669	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	21
419	Bacteroidota	Chitinophagaceae	21
563	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	21
594	Bacteroidota	Chitinophagaceae	21
615	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	21
701	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	21
713	Acidobacteriota	uncultured	21
832	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	21
869	Actinobacteriota	Actinobacteriota_unclassified	21
932	Acidobacteriota	Bryobacteraceae	21
1059	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	20
1210	Chloroflexi	KD4-96_fa	20

1217	Actinobacteriota	uncultured	20
1220	Proteobacteria	Beijerinckiaceae	20
1307	Proteobacteria	Rhizobiaceae	20
1362	Acidobacteriota	uncultured	20
1657	Acidobacteriota	uncultured	20
1666	Proteobacteria	Burkholderiaceae	20
383	Proteobacteria	PLTA13_fa	20
491	Actinobacteriota	Propionibacteriaceae	20
668	Actinobacteriota	Streptosporangiaceae	20
795	Actinobacteriota	67-14	20
851	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	20
887	Bacteroidota	Chitinophagaceae	20
990	Firmicutes	Paenibacillaceae	20
1099	Actinobacteriota	Geodermatophilaceae	19
1216	Proteobacteria	CCD24_fa	19
1261	Planctomycetota	Gemmataceae	19
1361	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	19
1472	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	19
1569	Actinobacteriota	Propionibacteriaceae	19
1583	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	19
1655	Actinobacteriota	Gaiellaceae	19
1665	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	19
591	Chloroflexi	KD4-96_fa	19
646	Proteobacteria	Dongiaceae	19
964	Actinobacteriota	uncultured	19
1057	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	18
1097	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	18
1098	Proteobacteria	Methyloligellaceae	18
1213	Firmicutes	Paenibacillaceae	18
1305	Chloroflexi	KD4-96_fa	18
1309	RCP2-54	RCP2-54_fa	18
1367	Acidobacteriota	Subgroup_25_fa	18
1407	Actinobacteriota	uncultured	18

1421	Chloroflexi	KD4-96_fa	18
1474	Planctomycetota	Pirellulaceae	18
1482	Planctomycetota	Gemmataceae	18
1560	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	18
1567	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	18
1570	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	18
1576	Actinobacteriota	67-14	18
1659	Chloroflexi	KD4-96_fa	18
1781	Actinobacteriota	67-14	18
1790	Acidobacteriota	uncultured	18
243	Proteobacteria	Methyloligellaceae	18
593	Actinobacteriota	Cellulomonadaceae	18
673	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	18
780	Chloroflexi	KD4-96_fa	18
814	Acidobacteriota	Subgroup_11_fa	18
907	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	18
993	Firmicutes	Paenibacillaceae	18
1094	Acidobacteriota	uncultured	17
1101	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	17
1135	Myxococcota	Haliangiaceae	17
1141	Proteobacteria	SC-I-84	17
1169	Acidobacteriota	uncultured	17
1214	Planctomycetota	WD2101_soil_group	17
1259	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	17
1262	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	17
1306	Planctomycetota	Gemmataceae	17
1310	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	17
1408	Actinobacteriota	67-14	17
1468	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	17
1481	Actinobacteriota	uncultured	17
1566	Actinobacteriota	Intrasporangiaceae	17
1664	Bacteroidota	Chitinophagaceae	17
1788	Planctomycetota	Gemmataceae	17

2007	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	17
323	Proteobacteria	Devosiaceae	17
354	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	17
759	Actinobacteriota	Actinobacteria_unclassified	17
835	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	17
909	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	17
992	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	17
996	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	17
1	Proteobacteria	Pseudomonadaceae	16
1029	Actinobacteriota	uncultured	16
1060	Planctomycetota	WD2101_soil_group	16
1212	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	16
1215	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	16
1260	Proteobacteria	Rhizobiales_Incertae_Sedis	16
1360	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	16
1365	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	16
1370	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	16
1409	Acidobacteriota	uncultured	16
1412	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	16
1417	Myxococcota	Polyangiaceae	16
1478	Proteobacteria	uncultured_fa	16
1581	Acidobacteriota	Subgroup_5_fa	16
1651	Patescibacteria	Candidatus_Magasanikbacteria_fa	16
1653	Actinobacteriota	67-14	16
1771	Actinobacteriota	uncultured	16
1895	Myxococcota	Haliangiaceae	16
2135	Bacteroidota	Microscillaceae	16
616	Proteobacteria	Reyranellaceae	16
686	Acidobacteriota	Blastocatellaceae	16
796	Proteobacteria	Inquilinaceae	16
852	Actinobacteriota	Thermomonosporaceae	16
984	Actinobacteriota	67-14	16
1061	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	15

1129	Firmicutes	Paenibacillaceae	15
1139	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	15
1256	Acidobacteriota	uncultured	15
1311	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	15
1471	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	15
1556	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	15
1565	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	15
1574	Proteobacteria	Labraceae	15
1578	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	15
1584	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	15
1656	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	15
1663	Bacteroidota	Microscillaceae	15
1764	Acidobacteriota	uncultured	15
1786	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	15
45	Proteobacteria	Pseudomonadaceae	15
473	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	15
492	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	15
746	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	15
812	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	15
834	Chloroflexi	KD4-96_fa	15
925	Firmicutes	Bacillaceae	15
937	Actinobacteriota	67-14	15
994	Firmicutes	Paenibacillaceae	15
995	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	15
1030	Proteobacteria	Dongiaceae	14
1062	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	14
1063	Proteobacteria	Rhizobiales_Incertae_Sedis	14
1176	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	14
1313	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	14
1415	Planctomycetota	Isosphaeraceae	14
1480	Actinobacteriota	Solirubrobacterales_unclassified	14
1573	Patescibacteria	YM_S32_TM7_50_20	14
1661	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	14

1769	Planctomycetota	WD2101_soil_group	14
1770	Myxococcota	Phaselicystidaceae	14
1774	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	14
1792	Acidobacteriota	uncultured	14
2017	Planctomycetota	Pirellulaceae	14
2021	Acidobacteriota	Subgroup_11_fa	14
2127	RCP2-54	RCP2-54_fa	14
2131	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	14
2132	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	14
2146	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	14
2414	Planctomycetota	WD2101_soil_group	14
455	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	14
742	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	14
760	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	14
1175	Proteobacteria	Burkholderiaceae	13
1266	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	13
1418	Firmicutes	Paenibacillaceae	13
1557	Acidobacteriota	uncultured	13
1558	Proteobacteria	SC-I-84	13
1571	Actinobacteriota	Pseudonocardiaceae	13
1572	Actinobacteriota	Intrasporangiaceae	13
1579	Actinobacteriota	Sporichthyaceae	13
1652	Actinobacteriota	uncultured	13
1768	Planctomycetota	Gemmataceae	13
1879	Latescibacterota	Latescibacterota_fa	13
1881	Proteobacteria	Diplorickettsiaceae	13
1891	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	13
2006	Acidobacteriota	uncultured	13
2025	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	13
2117	Proteobacteria	uncultured	13
2118	Proteobacteria	Comamonadaceae	13
2129	Proteobacteria	Gammaproteobacteria_unclassified	13
2141	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	13

2267	Proteobacteria	Enterobacteriaceae	13
2268	Firmicutes	Paenibacillaceae	13
2275	Actinobacteriota	67-14	13
238	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	13
2439	Acidobacteriota	uncultured	13
571	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	13
730	Proteobacteria	Methyloligellaceae	13
797	Chloroflexi	KD4-96_fa	13
871	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	13
908	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	13
911	Acidobacteriota	uncultured	13
963	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	13
1264	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	12
1369	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	12
1372	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	12
1411	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	12
1420	Actinobacteriota	Mycobacteriaceae	12
1422	Verrucomicrobiota	Terrimicrobiaceae	12
1476	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	12
1484	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	12
1563	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	12
1568	Actinobacteriota	Streptomycetaceae	12
1575	Proteobacteria	KF-JG30-B3	12
1577	Proteobacteria	Rhodomicrobiaceae	12
1654	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	12
1658	Proteobacteria	Caulobacteraceae	12
1766	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	12
1767	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	12
1772	Acidobacteriota	uncultured	12
1782	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	12
1877	Firmicutes	Paenibacillaceae	12
1880	Acidobacteriota	uncultured	12
1893	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	12

1896	Planctomycetota	Gemmataceae	12
1898	Acidobacteriota	Subgroup_17_fa	12
1999	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	12
2011	Bacteroidota	Chitinophagaceae	12
2012	Actinobacteriota	67-14	12
2013	Planctomycetota	Gemmataceae	12
2014	Myxococcota	bacteriap25_fa	12
2016	Planctomycetota	WD2101_soil_group	12
2125	Acidobacteriota	uncultured	12
2126	Planctomycetota	Gemmataceae	12
2143	Actinobacteriota	Microtrichales_unclassified	12
2283	Actinobacteriota	Gaiellaceae	12
2287	Actinobacteriota	Cellulomonadaceae	12
2290	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	12
2421	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	12
2437	Actinobacteriota	67-14	12
2442	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	12
2448	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	12
2612	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	12
2620	Acidobacteriota	uncultured	12
626	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	12
939	Acidobacteriota	uncultured	12
1100	Proteobacteria	JG36-TzT-191_fa	11
1142	Actinobacteriota	Gaiellaceae	11
1177	Planctomycetota	WD2101_soil_group	11
1218	Chloroflexi	Roseiflexaceae	11
1267	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	11
1315	Actinobacteriota	uncultured	11
1317	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	11
1364	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	11
1368	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	11
1470	Myxococcota	Phaselicystidaceae	11
1475	Chloroflexi	KD4-96_fa	11

1477	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	11
1479	Actinobacteriota	Actinobacteriota_unclassified	11
1561	Planctomycetota	uncultured	11
1580	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	11
1582	Bacteroidota	Chitinophagaceae	11
1585	Acidobacteriota	Acidobacteriales_unclassified	11
1775	Acidobacteriota	Subgroup_17_fa	11
1777	Proteobacteria	SC-I-84	11
1783	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	11
1785	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	11
1789	Proteobacteria	Devosiaceae	11
1793	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	11
1884	Actinobacteriota	Actinobacteriota_unclassified	11
1897	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	11
1902	Planctomycetota	Gemmataceae	11
2004	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	11
2022	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	11
2124	Actinobacteriota	67-14	11
2144	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	11
2147	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	11
2254	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	11
2256	Myxococcota	Myxococcaceae	11
2286	Actinobacteriota	67-14	11
2424	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	11
2435	Proteobacteria	Rhodomicrobiaceae	11
2604	Planctomycetota	Gemmataceae	11
2624	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	11
2630	Acidobacteriota	Solibacteraceae	11
2794	Actinobacteriota	67-14	11
2803	Bacteroidota	Flavobacteriaceae	11
647	Chloroflexi	Caldilineaceae	11
661	Firmicutes	Planococcaceae	11
997	Bacteroidota	Chitinophagaceae	11

998	Proteobacteria	SC-I-84	11
121	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	10
1373	Bacteroidota	Microscillaceae	10
1586	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	10
1660	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	10
1667	Proteobacteria	uncultured	10
1670	Planctomycetota	Isosphaeraceae	10
1773	Methylomirabilota	Rokubacteriales_fa	10
1784	Acidobacteriota	Subgroup_5_fa	10
1876	Firmicutes	Paenibacillaceae	10
1883	Proteobacteria	Yersiniaceae	10
1886	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	10
1901	Actinobacteriota	Frankiales_fa	10
197	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	10
2000	Proteobacteria	SC-I-84	10
2002	Actinobacteriota	Pseudonocardiaceae	10
2005	Actinobacteriota	Pseudonocardiaceae	10
2023	Chloroflexi	KD4-96_fa	10
2024	Proteobacteria	Acetobacteraceae	10
2140	Actinobacteriota	67-14	10
2273	Desulfobacterota	uncultured_fa	10
2276	Proteobacteria	uncultured_fa	10
2288	Proteobacteria	Micropepsaceae	10
2293	Bacteroidota	Chitinophagaceae	10
2410	Actinobacteriota	Pseudonocardiaceae	10
2412	Chloroflexi	Anaerolineaceae	10
2433	Proteobacteria	Comamonadaceae	10
2440	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	10
2447	Planctomycetota	Gemmataceae	10
2596	Chloroflexi	S085_fa	10
2832	Proteobacteria	Acetobacteraceae	10
2834	Proteobacteria	Acetobacteraceae	10
2839	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	10

3092	Proteobacteria	Alphaproteobacteria_unclassified	10
3100	Proteobacteria	uncultured	10
3101	Proteobacteria	A21b	10
3391	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	10
965	Latescibacterota	Latescibacteraceae	10
999	Acidobacteriota	uncultured	10
1265	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	9
1363	Myxococcota	Haliangiaceae	9
1416	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	9
1469	Actinobacteriota	Streptosporangiaceae	9
1483	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	9
1490	Proteobacteria	Diplorickettsiaceae	9
1672	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	9
1765	Proteobacteria	Dongiaceae	9
1776	Methylomirabilota	WX65	9
1885	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	9
1887	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	9
1888	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	9
1889	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	9
1890	Actinobacteriota	Microtrichales_unclassified	9
1903	Patescibacteria	Saccharimonadales_fa	9
200	Proteobacteria	Comamonadaceae	9
2003	Actinobacteriota	67-14	9
2009	Actinobacteriota	Acidothermaceae	9
2015	Verrucomicrobiota	cvE6	9
2121	Actinobacteriota	uncultured	9
2130	Actinobacteriota	Thermomonosporaceae	9
2136	Proteobacteria	A21b	9
2137	Entotheonellaeota	Entotheonellaceae	9
2142	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	9
2150	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	9
2151	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	9
2252	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	9

2255	Actinobacteriota	uncultured	9
2261	Proteobacteria	TRA3-20	9
2264	Proteobacteria	Rhizobiales_Incertae_Sedis	9
2266	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	9
2269	Firmicutes	Paenibacillaceae	9
2278	Acidobacteriota	uncultured	9
2280	Acidobacteriota	uncultured	9
2408	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	9
2419	Bacteroidota	Weeksellaceae	9
2422	Myxococcota	Myxococcaceae	9
2445	Planctomycetota	Isosphaeraceae	9
2449	Acidobacteriota	Bryobacteraceae	9
2594	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	9
2603	Proteobacteria	Acetobacteraceae	9
2609	Proteobacteria	TRA3-20	9
2628	Planctomycetota	Pirellulaceae	9
2812	Planctomycetota	Isosphaeraceae	9
2838	Bacteroidota	Hymenobacteraceae	9
3056	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	9
3064	Planctomycetota	uncultured	9
3069	Sumerlaeota	Sumerlaeaceae	9
3077	Actinobacteriota	uncultured	9
3103	Verrucomicrobiota	Chlamydiales_unclassified	9
3106	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	9
3357	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	9
3401	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	9
747	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	9
836	Proteobacteria	Micropepsaceae	9
845	Firmicutes	Paenibacillaceae	9
903	Acidobacteriota	uncultured	9
1486	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	8
1787	Acidobacteriota	uncultured	8
1899	Proteobacteria	Comamonadaceae	8

1904	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	8
2019	Myxococcota	Myxococcaceae	8
2138	Bacteroidota	Chitinophagaceae	8
2139	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	8
2145	Actinobacteriota	67-14	8
2148	Proteobacteria	Diplorickettsiaceae	8
2257	Planctomycetota	Pirellulaceae	8
2271	Acidobacteriota	uncultured	8
2281	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	8
2284	Planctomycetota	WD2101_soil_group	8
2289	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	8
2292	Proteobacteria	Xanthomonadaceae	8
2405	Chloroflexi	TK10_fa	8
2406	Bacteroidota	Microscillaceae	8
2413	Chloroflexi	S085_fa	8
2415	Bacteroidota	Chitinophagaceae	8
2420	Chloroflexi	KD4-96_fa	8
2428	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	8
2443	Chloroflexi	Gitt-GS-136_fa	8
2444	Chloroflexi	KD4-96_fa	8
2446	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	8
2601	Planctomycetota	OM190_fa	8
2607	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	8
2608	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	8
2632	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	8
2809	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	8
2817	Verrucomicrobiota	Parachlamydiaceae	8
2826	Acidobacteriota	Thermoanaerobaculaceae	8
2836	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	8
3062	Planctomycetota	Pirellulaceae	8
3071	Proteobacteria	uncultured	8
3080	Planctomycetota	Pirellulaceae	8
3102	Actinobacteriota	0319-7L14_fa	8

3117	Actinobacteriota	uncultured_fa	8
3417	Planctomycetota	Gemmataceae	8
3782	Proteobacteria	uncultured	8
558	Actinobacteriota	Nocardiaceae	8
1031	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	7
1424	Acidobacteriota	uncultured	7
1487	Chloroflexi	JG30-KF-CM66_fa	7
1559	Actinobacteriota	uncultured	7
1751	Firmicutes	Paenibacillaceae	7
1794	Chloroflexi	A4b	7
1878	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	7
1892	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	7
2001	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	7
2018	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	7
2149	Actinobacteriota	uncultured	7
2253	Verrucomicrobiota	Parachlamydiaceae	7
2258	Planctomycetota	WD2101_soil_group	7
2260	Actinobacteriota	67-14	7
2263	Firmicutes	Paenibacillaceae	7
2265	Chloroflexi	KD4-96_fa	7
2272	Chloroflexi	Roseiflexaceae	7
2277	Actinobacteriota	uncultured_fa	7
2279	Acidobacteriota	Bryobacteraceae	7
2407	Proteobacteria	A21b	7
2417	Proteobacteria	TRA3-20	7
2427	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	7
2429	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	7
2430	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	7
2434	Actinobacteriota	uncultured_fa	7
2436	Acidobacteriota	Blastocatellaceae	7
2438	Actinobacteriota	Kineosporiaceae	7
2593	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	7
2597	Bacteroidota	Microscillaceae	7

2598	Actinobacteriota	67-14	7
2600	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	7
2610	Proteobacteria	CCD24_fa	7
2611	Verrucomicrobiota	Opitutaceae	7
2622	Planctomycetota	Isosphaeraceae	7
2627	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	7
2629	Bacteroidota	Chitinophagaceae	7
2631	Acidobacteriota	Koribacteraceae	7
2793	Actinobacteriota	Acidimicrobiaceae	7
2801	Acidobacteriota	Bryobacteraceae	7
2811	Acidobacteriota	uncultured	7
2816	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	7
2825	Actinobacteriota	Microtrichales_unclassified	7
2845	Proteobacteria	Beijerinckiaceae	7
2846	Actinobacteriota	uncultured	7
289	Proteobacteria	Azospirillaceae	7
3052	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	7
3059	Bacteroidota	Flavobacteriaceae	7
3075	Proteobacteria	Burkholderiaceae	7
3105	Acidobacteriota	Thermoanaerobaculaceae	7
3125	Planctomycetota	Tepidisphaeraceae	7
3347	Firmicutes	Paenibacillaceae	7
3359	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	7
3372	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	7
3373	Proteobacteria	Hyphomonadaceae	7
3384	Firmicutes	Thermoactinomycetaceae	7
3403	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	7
3409	Chloroflexi	S085_fa	7
3736	Bacteroidota	SJA-28_fa	7
3742	Planctomycetota	Gemmataceae	7
3745	Chloroflexi	RBG-13-54-9_fa	7
1319	Firmicutes	Bacillaceae	6
1371	Actinobacteriota	67-14	6

1391	Actinobacteriota	Nocardiaceae	6
1485	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	6
1662	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	6
1668	Myxococcota	Sandaracinaceae	6
1673	Bacteroidota	Saprospiraceae	6
1778	Planctomycetota	WD2101_soil_group	6
1791	Acidobacteriota	uncultured	6
1900	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	6
1906	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	6
2008	Proteobacteria	TRA3-20	6
2020	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	6
2026	Planctomycetota	Isosphaeraceae	6
2134	Acidobacteriota	uncultured	6
2249	Proteobacteria	TRA3-20	6
2259	Planctomycetota	uncultured	6
2262	Firmicutes	Paenibacillaceae	6
2274	Firmicutes	Paenibacillaceae	6
2282	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	6
2431	Acidobacteriota	Subgroup_17_fa	6
2441	Actinobacteriota	Gaiellaceae	6
2450	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	6
2595	Chloroflexi	TK10_fa	6
2613	Proteobacteria	uncultured	6
2617	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	6
2619	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	6
2623	Firmicutes	Paenibacillaceae	6
2625	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	6
2791	Chloroflexi	KD4-96_fa	6
2795	Proteobacteria	Acetobacteraceae	6
2804	Proteobacteria	Steroidobacteraceae	6
2820	Chloroflexi	S085_fa	6
2823	Actinobacteriota	uncultured_fa	6
2831	Planctomycetota	WD2101_soil_group	6

2833	Planctomycetota	Isosphaeraceae	6
3058	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	6
3072	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	6
3074	Planctomycetota	uncultured	6
3079	Myxococcota	Myxococcaceae	6
3088	Proteobacteria	Nitrosococcaceae	6
3089	Verrucomicrobiota	Opitutaceae	6
3093	Proteobacteria	Diplorickettsiaceae	6
3099	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	6
3120	Actinobacteriota	Ilumatobacteraceae	6
3128	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	6
3129	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	6
3340	Planctomycetota	Pirellulaceae	6
3346	Chloroflexi	Caldilineaceae	6
3370	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	6
3397	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	6
3402	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	6
3411	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	6
3418	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	6
3422	Bacteroidota	SJA-28_fa	6
3718	Chloroflexi	SBR1031_fa	6
3747	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	6
3769	Verrucomicrobiota	Parachlamydiaceae	6
3777	Bacteroidota	Sphingobacteriales_unclassified	6
3786	Chloroflexi	TK10_fa	6
436	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	6
754	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	6
761	Acidobacteriota	Solibacteraceae	6
1014	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	5
1318	Acidobacteriota	Subgroup_2_fa	5
1423	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	5
1489	Planctomycetota	Pirellulaceae	5
1882	Actinobacteriota	67-14	5

1894	Actinobacteriota	67-14	5
1905	Actinobacteriota	uncultured	5
1998	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	5
2119	Bacteroidota	Chitinophagaceae	5
2123	Proteobacteria	Rhizobiales_Incertae_Sedis	5
2128	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	5
2251	Acidobacteriota	uncultured	5
2270	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	5
2285	Chloroflexi	KD4-96_fa	5
2291	Acidobacteriota	Subgroup_5_fa	5
2409	Acidobacteriota	Solibacteraceae	5
2411	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	5
2416	Firmicutes	Paenibacillaceae	5
2423	Myxococcota	Haliangiaceae	5
2426	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	5
2432	Proteobacteria	Comamonadaceae	5
2451	Acidobacteriota	uncultured	5
2588	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	5
2592	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	5
2602	Planctomycetota	Rubinisphaeraceae	5
2605	Planctomycetota	Gemmataceae	5
2606	Bacteroidota	Flavobacteriaceae	5
2626	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	5
2633	Dependentiae	UBA12409	5
2802	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	5
2805	Acidobacteriota	uncultured	5
2806	Bacteroidota	Cytophagaceae	5
2808	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	5
2813	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	5
2821	Verrucomicrobiota	Opitutaceae	5
2827	Planctomycetota	Gemmataceae	5
2837	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	5
3061	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	5

3065	Planctomycetota	WD2101_soil_group	5
3073	Planctomycetota	WD2101_soil_group	5
3096	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	5
3109	Proteobacteria	uncultured	5
3112	Acidobacteriota	Thermoanaerobaculaceae	5
3113	Acidobacteriota	uncultured	5
3118	Acidobacteriota	Bryobacteraceae	5
3121	Proteobacteria	Diplorickettsiaceae	5
3122	Actinobacteriota	Intrasporangiaceae	5
3126	Planctomycetota	Gemmataceae	5
3127	Actinobacteriota	uncultured_fa	5
3130	Bacteroidota	Saprospiraceae	5
3348	Myxococcota	Haliangiaceae	5
3352	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	5
3364	Myxococcota	Haliangiaceae	5
3365	Acidobacteriota	uncultured	5
3366	Planctomycetota	Pirellulaceae	5
3367	Actinobacteriota	MB-A2-108_fa	5
3368	Armatimonadota	Chthonomonadaceae	5
3378	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	5
3386	Patescibacteria	LWQ8	5
3395	Proteobacteria	Rhizobiales_unclassified	5
3410	Patescibacteria	Saccharimonadales_unclassified	5
3694	Bacteroidota	Chitinophagaceae	5
3700	Chloroflexi	AKIW781	5
3701	Actinobacteriota	Actinobacteria_unclassified	5
3724	Actinobacteriota	uncultured_fa	5
3726	Myxococcota	Haliangiaceae	5
3739	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	5
3750	Myxococcota	Haliangiaceae	5
3752	Proteobacteria	Comamonadaceae	5
3758	Actinobacteriota	Microtrichales_unclassified	5
3774	Patescibacteria	Saccharimonadales_fa	5

3776	Bacteroidota	Chitinophagaceae	5
3781	Verrucomicrobiota	Chlamydiales_unclassified	5
3784	Planctomycetota	Pirellulaceae	5
4086	NB1-j	NB1-j_fa	5
1488	Chloroflexi	JG30-KF-CM45	4
1674	Bacteroidota	Chitinophagaceae	4
2133	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	4
2295	Bacteroidota	Chitinophagaceae	4
2418	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	4
2425	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiaceae	4
2452	Chloroflexi	Ktedonobacteraceae	4
2590	Proteobacteria	Comamonadaceae	4
2591	Actinobacteriota	Gaiellaceae	4
2615	Acidobacteriota	uncultured	4
2616	Actinobacteriota	uncultured	4
2618	Myxococcota	Sandaracinaceae	4
2796	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	4
2797	Chloroflexi	KD4-96_fa	4
2798	Actinobacteriota	Gaiellaceae	4
2807	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	4
2814	Patescibacteria	Saccharimonadales_fa	4
2815	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	4
2818	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	4
2824	Bdellovibrionota	Bdellovibrionaceae	4
2829	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	4
2835	Planctomycetota	Pirellulaceae	4
3055	Bacteroidota	Chitinophagaceae	4
3057	Planctomycetota	WD2101_soil_group	4
3063	Bdellovibrionota	Oligoflexaceae	4
3067	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	4
3070	Patescibacteria	Saccharimonadales_fa	4
3078	Bdellovibrionota	Bdellovibrionaceae	4
3084	Planctomycetota	Pirellulaceae	4

3085	Planctomycetota	Gemmataceae	4
3086	Actinobacteriota	uncultured	4
3090	Planctomycetota	Gemmataceae	4
3094	Desulfobacterota	uncultured_fa	4
3095	Armatimonadota	Chthonomonadales_fa	4
3098	Proteobacteria	Legionellaceae	4
3104	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	4
3107	Proteobacteria	Rhodocyclaceae	4
3114	Proteobacteria	uncultured_fa	4
3119	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	4
3343	Elusimicrobiota	Lineage_IIa_fa	4
3345	Actinobacteriota	Pseudonocardiaceae	4
3349	Actinobacteriota	Iamiaceae	4
3350	RCP2-54	RCP2-54_fa	4
3355	Patescibacteria	LWQ8	4
3360	Firmicutes	Hungateiclostridiaceae	4
3375	Chloroflexi	A4b	4
3388	Bacteroidota	Chitinophagaceae	4
3394	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	4
3398	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	4
3399	Actinobacteriota	Microbacteriaceae	4
3400	Patescibacteria	Candidatus_Kaiserbacteria_fa	4
3405	Chloroflexi	Anaerolineaceae	4
341	Firmicutes	Paenibacillaceae	4
3412	Myxococcota	BIrii41	4
3413	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	4
3416	Acidobacteriota	Subgroup_20_fa	4
3419	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	4
3426	Bacteroidota	Chitinophagaceae	4
3428	Planctomycetota	Gemmataceae	4
3429	Actinobacteriota	IMCC26256_fa	4
3697	Actinobacteriota	Thermoleophilia_unclassified	4
3705	Myxococcota	Polyangiaceae	4

3716	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	4
3720	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	4
3743	Actinobacteriota	Microtrichales_unclassified	4
3744	Proteobacteria	A0839	4
3759	Chloroflexi	Chloroflexi_unclassified	4
3763	Patescibacteria	Saccharimonadales_unclassified	4
3772	Proteobacteria	Burkholderiaceae	4
3773	Verrucomicrobiota	Opitutaceae	4
3785	Myxococcota	mle1-27_fa	4
3788	Myxococcota	Polyangia_unclassified	4
3792	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	4
3793	Planctomycetota	Gemmataceae	4
3796	Desulfobacterota	uncultured_fa	4
3800	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	4
3804	Bdellovibrionota	0319-6G20_fa	4
657	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	4
2027	Proteobacteria	Burkholderiales_unclassified	3
2589	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	3
2599	Acidobacteriota	uncultured	3
2614	Proteobacteria	uncultured_fa	3
2621	Actinobacteriota	Gaiellaceae	3
2790	Planctomycetota	Gemmataceae	3
2800	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	3
2810	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	3
2822	RCP2-54	RCP2-54_fa	3
2840	Chloroflexi	Roseiflexaceae	3
2841	Cyanobacteria	Nostocaceae	3
2843	Actinobacteriota	67-14	3
3053	Acidobacteriota	Thermoanaerobaculaceae	3
3054	Actinobacteriota	67-14	3
3060	Planctomycetota	Gemmataceae	3
3068	Planctomycetota	Pirellulaceae	3
3076	Bacteroidota	Chitinophagaceae	3

3082	Actinobacteriota	uncultured_fa	3
3083	Proteobacteria	Xanthobacteraceae	3
3087	Acidobacteriota	uncultured	3
3091	Acidobacteriota	Blastocatellaceae	3
3115	Actinobacteriota	Micromonosporaceae	3
3116	Proteobacteria	PLTA13_fa	3
3123	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	3
3341	Planctomycetota	Gemmataceae	3
3342	Verrucomicrobiota	Parachlamydiaceae	3
3351	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	3
3353	Planctomycetota	Pirellulaceae	3
3356	Acidobacteriota	uncultured	3
3361	Myxococcota	bacteriap25_fa	3
3363	Firmicutes	Bacilli_unclassified	3
3381	Actinobacteriota	uncultured_fa	3
3385	Bacteroidota	Chitinophagaceae	3
3389	Chloroflexi	AKYG1722	3
3393	Bacteroidota	Chitinophagaceae	3
3396	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	3
3406	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	3
3414	Firmicutes	Paenibacillaceae	3
3415	Patescibacteria	GWA2-38-13b_fa	3
3420	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	3
3423	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiaceae	3
3425	Proteobacteria	R7C24_fa	3
3427	Proteobacteria	Beijerinckiaceae	3
3699	Proteobacteria	Legionellaceae	3
3706	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	3
3708	Acidobacteriota	PAUC26f_fa	3
3709	Verrucomicrobiota	Simkaniaceae	3
3712	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	3
3713	Acidobacteriota	uncultured	3
3725	Verrucomicrobiota	Opitutaceae	3

3728	Actinobacteriota	Thermoleophilia_unclassified	3
3730	Verrucomicrobiota	Opitutaceae	3
3731	Planctomycetota	Pirellulaceae	3
3734	Armatimonadota	Armatimonadales_fa	3
3735	Acidobacteriota	Subgroup_22_fa	3
3746	Actinobacteriota	Frankiaceae	3
3749	Acidobacteriota	Acidobacteriaceae_(Subgroup_1)	3
3753	Bacteroidota	Microscillaceae	3
3756	Bdellovibrionota	Bdellovibrionaceae	3
3761	Bacteroidota	AKYH767	3
3767	Proteobacteria	Diplorickettsiaceae	3
3768	Planctomycetota	OM190_fa	3
3778	NB1-j	NB1-j_fa	3
3780	Bacteroidota	Chitinophagaceae	3
3783	Planctomycetota	Planctomycetales_unclassified	3
3787	Acidobacteriota	Thermoanaerobaculaceae	3
3790	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	3
3791	Bdellovibrionota	Bdellovibrionaceae	3
3801	Planctomycetota	Pirellulaceae	3
3803	Firmicutes	Sporomusaceae	3
4061	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	3
4062	Dependentiae	Babeliales_unclassified	3
4069	Patescibacteria	Kazania_fa	3
4073	Firmicutes	Carnobacteriaceae	3
4083	Myxococcota	Polyangiaceae	3
4092	Proteobacteria	Proteobacteria_unclassified	3
4095	Verrucomicrobiota	Parachlamydiaceae	3
4096	Verrucomicrobiota	Omnitrophales_unclassified	3
4108	Chloroflexi	OLB14_fa	3
4111	Acidobacteriota	Subgroup_17_fa	3
4112	Planctomycetota	Pirellulaceae	3
4236	Actinobacteriota	uncultured	3
4237	Acidobacteriota	Subgroup_22_fa	3

1796	Proteobacteria	Inquilinaceae	2
2250	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	2
2294	Acidobacteriota	uncultured	2
2792	Bacteroidota	Chitinophagaceae	2
2799	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	2
2828	Proteobacteria	uncultured	2
2844	Planctomycetota	Gemmataceae	2
3066	Planctomycetota	uncultured	2
3081	Actinobacteriota	Nocardioidaceae	2
3108	Planctomycetota	WD2101_soil_group	2
3110	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	2
3344	Actinobacteriota	Gaiellales_unclassified	2
3354	Actinobacteriota	Solirubrobacteraceae	2
3358	Acidobacteriota	uncultured	2
3371	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	2
3376	Planctomycetota	Pirellulaceae	2
3382	Acidobacteriota	Vicinamibacterales_unclassified	2
3383	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	2
3387	Proteobacteria	uncultured	2
3392	Firmicutes	Paenibacillaceae	2
3404	Acidobacteriota	uncultured	2
3407	Actinobacteriota	uncultured	2
3408	Actinobacteriota	uncultured	2
3421	Patescibacteria	Saccharimonadales_unclassified	2
3693	Acidobacteriota	uncultured	2
3695	Acidobacteriota	Subgroup_22_fa	2
3696	Myxococcota	Phaselicystidaceae	2
3703	Planctomycetota	Gemmataceae	2
3704	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	2
3714	Patescibacteria	Parcubacteria_unclassified	2
3715	Myxococcota	Anaeromyxobacteraceae	2
3717	Latescibacterota	Latescibacterota_fa	2
3719	Planctomycetota	Tepidisphaeraceae	2

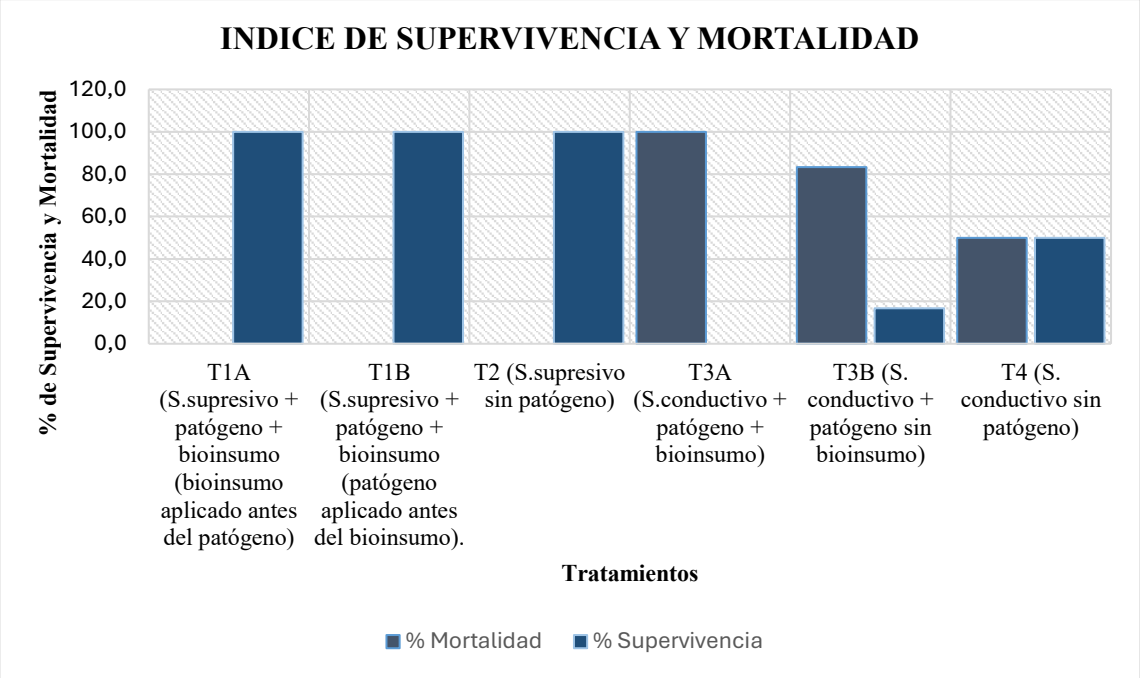
3721	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	2
3727	Patescibacteria	Saccharimonadales_fa	2
3740	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	2
3741	Cyanobacteria	Obscuribacteraceae	2
3757	Myxococcota	Haliangiaceae	2
3762	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	2
3764	Dependentiae	Babeliaceae	2
3765	Planctomycetota	Gemmataceae	2
3766	Firmicutes	Paenibacillaceae	2
3771	Acidobacteriota	Pyrinomonadaceae	2
3795	Dependentiae	Vermiphilaceae	2
4054	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	2
4055	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	2
4056	Dependentiae	Babeliaceae	2
4058	Firmicutes	Paenibacillaceae	2
4059	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	2
4067	Planctomycetota	Pirellulaceae	2
4068	Planctomycetota	Gemmataceae	2
4074	Acidobacteriota	Subgroup_22_fa	2
4080	Patescibacteria	Parcubacteria_unclassified	2
4087	Dependentiae	Babeliales_unclassified	2
4093	Bdellovibrionota	Silvanigrellaceae	2
4098	Latescibacterota	Latescibacterota_fa	2
4099	Chloroflexi	C0119_fa	2
4106	Patescibacteria	Parcubacteria_fa	2
4110	Verrucomicrobiota	Simkaniaceae	2
4254	Acidobacteriota	uncultured	2
912	Chloroflexi	Ktedonobacteraceae	2
1795	Actinobacteriota	Gaiellaceae	1
3124	Patescibacteria	WWH38	1
3369	Planctomycetota	WD2101_soil_group	1
3377	Bacteroidota	Chitinophagaceae	1
3380	Firmicutes	Paenibacillaceae	1

3390	Acidobacteriota	Subgroup_7_fa	1
3430	Gemmatimonadota	Gemmatimonadaceae	1
3698	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	1
3707	Abditibacteriota	Abditibacteriaceae	1
3710	Myxococcota	Myxococcaceae	1
3711	Acidobacteriota	Subgroup_25_fa	1
3722	Bacteroidota	Sphingobacteriaceae	1
3732	Actinobacteriota	Iamiaceae	1
3733	Myxococcota	Polyangia_unclassified	1
3737	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	1
3748	Patescibacteria	Candidatus_Moranbacteria_fa	1
3751	Bacteroidota	Kapabacteriales_fa	1
3755	Actinobacteriota	Thermoleophilia_unclassified	1
3760	Firmicutes	Erysipelotrichaceae	1
3775	Acidobacteriota	uncultured	1
3794	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiae_unclassified	1
3797	Chloroflexi	Thermomicrobiales_unclassified	1
3802	Bacteroidota	Chitinophagaceae	1
4053	Acidobacteriota	Subgroup_17_fa	1
4057	Patescibacteria	Saccharimonadales_unclassified	1
4064	Acidobacteriota	uncultured	1
4065	Firmicutes	Clostridiaceae	1
4070	Proteobacteria	Rhodanobacteraceae	1
4072	Chloroflexi	Roseiflexaceae	1
4077	Actinobacteriota	uncultured	1
4078	Actinobacteriota	Thermoleophilia_unclassified	1
4084	Desulfobacterota	uncultured_fa	1
4085	Planctomycetota	WD2101_soil_group	1
4090	Chloroflexi	Chloroflexales_unclassified	1
4091	Bacteroidota	Chitinophagaceae	1
4094	Dependentiae	Babeliales_unclassified	1
4100	Desulfobacterota	uncultured_fa	1
4101	Acidobacteriota	uncultured	1

4102	Acidobacteriota	uncultured	1
4103	Myxococcota	Blfdi19_fa	1
4105	Bdellovibrionota	Bdellovibrionaceae	1
4107	Proteobacteria	Coxiellaceae	1
4109	Chloroflexi	Anaerolineaceae	1
4114	Planctomycetota	OM190_fa	1
4115	Chloroflexi	uncultured	1
4116	Proteobacteria	Nitrosomonadaceae	1
4228	Proteobacteria	SC-I-84	1
4230	Acidobacteriota	uncultured	1
4231	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	1
4238	Proteobacteria	SC-I-84	1
4241	Planctomycetota	Planctomycetes_unclassified	1
4242	Acidobacteriota	Vicinamibacteraceae	1
4243	Verrucomicrobiota	Chthoniobacteraceae	1
4244	Acidobacteriota	Subgroup_2_fa	1
4246	Verrucomicrobiota	Pedosphaeraceae	1
4248	Acidobacteriota	Subgroup_17_fa	1
4249	Actinobacteriota	Pseudonocardiaceae	1
4250	Actinobacteriota	67-14	1
4253	Actinobacteriota	67-14	1
4255	Planctomycetota	Pirellulaceae	1
94	Proteobacteria	Pseudomonadaceae	1

Anexo 13

Índice porcentual de supervivencia y mortalidad en plantas de quinua bajo distintos tratamientos de suelo, patógeno y bioinsumo



Nota. El gráfico refleja la proporción de plantas vivas y muertas en función del tratamiento aplicado.

Anexo 14

Porcentaje de germinación de plántulas de quinua bajo distintos tratamientos.

Tratamiento	Plantas Vivas	Plantas Muertas	Total de Plantas	% Germinación
T1A	6	0	6	100
T1B	6	0	6	100
T2	12	0	12	100
T3A	0	6	6	0
T3B	1	5	6	16,67
T4	6	6	12	50
Total	31	17	48	**64,58**

Nota. Datos obtenidos a partir del cálculo de semillas germinadas respecto al total sembrado, considerando el tipo de suelo, presencia de patógeno y uso del bioinsumo