

Caracterización molecular de cepas nativas de *Bacillus* spp. en suelo rizosférico en tres regiones del Perú

Molecular characterization of native strains of *Bacillus* spp. in rhizospheric soil in three regions of Peru

José Alejandro Quispe Llanos
Universidad Nacional de Cañete, Perú
Facultad de Ciencias Agrarias
2002010184@undc.edu.pe
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-0377-7494>

Mayra Alejandra Contreras Vásquez
Universidad Nacional de Cañete, Perú
Facultad de Ciencias Agrarias
2002010060@undc.edu.pe
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3745-4716>

Diego Alonso Meza Huamán
Universidad Nacional de Cañete, Perú
Facultad de Ciencias Agrarias
2002010143@undc.edu.pe
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7009-5031>

Naysha Rojas Villa
Universidad Nacional de Cañete
nrojas@undc.edu.pe
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4716-0098>

Phillip David Ormeño Vásquez
Universidad Nacional de Cañete
pormeno@undc.edu.pe
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7920-0261>

Jossimar Raúl Vicente Berrocal
Universidad Nacional de Cañete,
rvicente@undc.edu.pe
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0059-0894>

Recepción: 21/04/26

Aceptación: 29/05/2026

Publicación: 03/05/2026

Resumen

El género *Bacillus* spp. comprende bacterias ampliamente empleadas como agentes de control biológico frente a enfermedades postcosecha que afectan frutas y hortalizas durante las etapas de almacenamiento y transporte. Estas bacterias poseen capacidad antagonista contra diversos fitopatógenos, entre ellos *Botrytis cinerea*, causante de la pudrición gris en el talamo ensanchado y *Alternaria solani*, causante de manchas necróticas en la hojas. En la presente investigación se efectuó la caracterización molecular de cepas pertenecientes al género *Bacillus* procedentes de tres localidades del Perú: Huaura, Chanchamayo y Cañete. Las muestras fueron obtenidas de suelos rizosféricos asociados a zonas agrícolas y posteriormente sometidas a procedimientos de aislamiento microbiológico, análisis molecular basado en el gen 16S ARNr y evaluación bioinformática. Como resultado, se obtuvieron 14 aislamientos bacterianos con porcentajes de identidad genética comprendidos entre 92,05 % y 100 %. La identificación molecular permitió determinar la presencia de 1 cepa de *Bacillus cereus*, 1 cepa de *Bacillus paralicheniformis*, 4 cepas de *Bacillus licheniformis* y 8 cepas de *Bacillus subtilis*. Finalmente, las relaciones evolutivas entre las cepas fueron establecidas mediante la elaboración de un árbol filogenético.

Palabras clave: *Bacillus* spp; caracterización molecular; rizósfera; 16S RNAr, biocontrolador.

Abstract

The genus *Bacillus* spp. comprises bacteria widely used as biological control agents against postharvest diseases affecting fruits and vegetables during storage and transportation. These bacteria possess antagonistic activity against several phytopathogens, including *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mold disease in strawberries. In the present study, the molecular characterization of *Bacillus* strains obtained from three regions of Peru — Huaura, Chanchamayo, and Cañete — was carried out. Samples were collected from rhizospheric soils associated with agricultural areas and subsequently subjected to microbiological isolation, molecular analysis based on the 16S rRNA gene, and bioinformatic evaluation. A total of 14 bacterial isolates were obtained, showing genetic identity percentages ranging from 92.05% to 100%. Molecular identification revealed the presence of 1 strain of *Bacillus cereus*, 1 strain of *Bacillus paralicheniformis*, 4 strains of *Bacillus licheniformis*, and 8 strains of *Bacillus subtilis*. Finally, the evolutionary relationships among the isolates were established through the construction of a phylogenetic tree.

Keywords: *Bacillus* spp; molecular characterization; rhizosphere; 16S rRNA, biocontroller.

1. Introducción

Los cultivos como hortalizas, verduras y frutas presentan incidencia de fitopatógenos entre la cosecha y el consumo, lo que genera un importante desperdicio de alimentos y pérdidas económicas. Se pierden alrededor del 45% de las frutas, verduras, raíces y tubérculos cosechados. La mayor parte de esta pérdida ocurre durante el almacenamiento debido al desarrollo de plagas y patógenos (bacterias, hongos e insectos), condiciones ambientales desfavorables (lluvia, humedad, heladas y calor), pérdida de agua, sacarificación y brotación (FAO, 2015).

Las bacterias del género *Bacillus* spp son identificados como microorganismos seguros para su empleo en la industria de alimentos. Ellos ocupan el mismo nicho que muchos patógenos y poseen la capacidad de generar diversas sustancias bioactivas con actividad antibiótica. Estas sustancias favorecen la activación de diversos procesos fisiológicos en el metabolismo de la planta hospedera, sin implicar riesgos para el ambiente ni para la salud humana (Maksimov et al., 2015). Además, *Bacillus* spp. (es decir, *B. subtilis*), producen endosporas resistentes a los tratamientos físicos y químicos dinámicos, como el calor, la desecación, los solventes orgánicos y la radiación ultravioleta, que por lo tanto mantienen su capacidad para desencadenar respuestas de defensa en las plantas huésped,

incluso en condiciones desfavorables (Gao et al., 2016). A su vez esto lo hace capaz de formular y almacenar fácilmente productos biológicos basados en *Bacillus* y sirve como un potente componente bioactivo contra patógenos (Aouadhi et al., 2016).

En la actualidad, el efecto protector de las cepas de *Bacillus* se utiliza en varias especies de plantas contra una amplia variedad de estreses bióticos (patógenos, plagas) (Egamberdieva et al., 2017) y abióticos (sequía, salinidad, temperaturas extremas, metales tóxicos, etc.) (Lastochkina et al., 2017).

El propósito del estudio es realizar la identificación molecular de las muestras de *Bacillus* spp. colectadas en suelo rizosférico de 3 regiones del Perú y la relación que existe entre estas especies a través de un árbol filogenético.

2. Materiales y métodos

2.1. Recolección y aislamiento de suelo

La colecta de suelo rizosféricos se realizaron en las zonas del 1) Anexo de Canín de provincia de Huaura, distrito de Checra, 2) Sector de Kimiri del distrito de Chanchamayo de la provincia de Chanchamayo y 3) Anexo de Catapalla del distrito de Lunahuaná de la provincia de Cañete. Posteriormente las muestras fueron procesadas para el aislamiento de cepas de *Bacillus* spp. Se pesaron 10 g de muestra de suelo rizosféricos, los cuales fueron

suspendidos en solución salina fisiológica estéril. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas en tres series consecutivas. Las muestras diluidas fueron sembradas en medio de cultivo Glucosa Triptona Extracto de Carne (TGE) e incubadas a una temperatura de 37 °C durante 24 horas para el crecimiento bacteriano. Finalmente se seleccionaron las colonias y se purificaron por estrías (Chávez-Ambriz et al., 2016; Larrea-Izurietta et al., 2015).

2.2. Extracción, cuantificación y calidad de ADN

Las cepas aisladas fueron inoculadas en medio de cultivo sólido Luria Broth (LB) e incubadas a 37 °C durante 18 horas, según la metodología descrita por Valdez-Núñez et al. (2020). Posteriormente, el aislamiento del ADN genómico se realizó siguiendo las especificaciones y protocolos establecidos por el fabricante del kit comercial Genomic DNA Extraction Kit - Gram (+) Bacteria/Yeast/Fungi (Cepharm Life Sciences). Luego se realizó la cuantificación de las muestras mediante el espectrofotómetro Eppendorf BioSpectrometer kinetic (Huertas, 2013) y para verificar la calidad e integridad del ADN se realizó una corrida de electroforesis de agarosa al 1 por ciento en una solución de tampón que regula el pH y ayuda que el ADN no se degrade (Buffer TAE 1X) (Rodríguez-Tolosaa et al., 2023).

2.3. Amplificación en PCR con el gen 16S rRNA y secuenciamiento de ADN

La amplificación se realizó en PCR (Clark et al., 2019) utilizando 2 µl de la muestra de ADN con el kit DreamTaq PCR Master Mix (2X) y los cebadores 16S ARNr (Suárez & Yañez, 2020). Para un control negativo se utilizó un mix sin muestra. Las mezclas fueron llevadas a procesar al termociclador Eppendorf Mastercycler X50s utilizando el siguiente ciclaje: 1 ciclo de desnaturalización inicio a 95 °C durante 3 minutos, con la finalidad de separar completamente las cadenas de ADN molde. Posteriormente, se realizaron 40 ciclos de amplificación, los cuales incluyeron una fase de desnaturalización a 95 °C para la separación de las cadenas de ADN, seguida de una etapa de hibridación o alineamiento de cebadores a 55

°C, permitiendo la unión específica de los primers a la región correspondiente del gen 16S ARNr por 5 minutos, elongación a 72°C por 1 minuto y un ciclo de la extensión final a 72°C por 15 minutos (Cattani et al., 2016). Los fragmentos amplificados mediante PCR fueron evaluados a través de una corrida electroforética en gel de agarosa al 1,5 %, utilizando como medio de migración una solución tampón TAE 1X y posteriormente fueron enviados a secuenciamiento de tipo Sanger (Tae et al., 2014) a la Universidad de Minnesota - USA.

2.4. Análisis bioinformático

Las secuencias obtenidas se editaron con el software Chromas con la versión 2.66 (<https://technelysium.com.au/wp/chromas/>) (Rahman et al., 2014), luego fueron analizadas con la plataforma online BLAST (Lorenz et al., 2013) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), posteriormente estas fueron alineadas utilizando la herramienta ClustalW y finalmente se realizó la construcción de un árbol filogenético a partir del gen 16S ARNr mediante el software MEGA 11.0.13 (Wei Wang, 2009) (<https://www.megasoftware.net/>) El análisis filogenético de las secuencias obtenidas se llevó a cabo mediante una reconstrucción evolutiva utilizando el método Neighbor-Joining, el cual permitió establecer relaciones de similitud genética entre las cepas bacterianas evaluadas. Para determinar la confiabilidad estadística de los agrupamientos formados en el dendrograma, se aplicó el método bootstrap con 1000 repeticiones, permitiendo evaluar la estabilidad y consistencia de cada clado generado.

Asimismo, las distancias genéticas entre secuencias fueron calculadas empleando el modelo evolutivo Maximum Composite Likelihood, utilizado para estimar el número de sustituciones nucleotídicas ocurridas entre las secuencias analizadas del gen 16S ARNr. Este enfoque permitió obtener una representación filogenética más precisa de las relaciones evolutivas presentes entre las cepas de *Bacillus* spp. evaluadas en el estudio.

3. Resultados

3.1. Colecta y aislamiento de muestras

Se obtuvo un total de 14 aislamientos bacterianos correspondientes a *Bacillus spp.*; 07 cepas fueron recolectadas en el anexo de Canín, perteneciente al distrito de Checras, provincia de Huaura. Asimismo, 05 aislamientos procedieron del sector Kimiri, ubicado en el distrito de Chanchamayo, provincia de Chanchamayo, mientras que las 02 cepas restantes se obtuvieron en el anexo de Catapalla, distrito de Lunahuaná, provincia de Cañete.

Para la cuantificación de ADN de las muestras se obtuvo un resultado promedio de 30,35 ng/μl, con un mínimo de 21.4 nanogramos por microlitros para las muestras N°6, N°9 y un máximo de 39.5 ng/μl para la muestra UNDC_05.

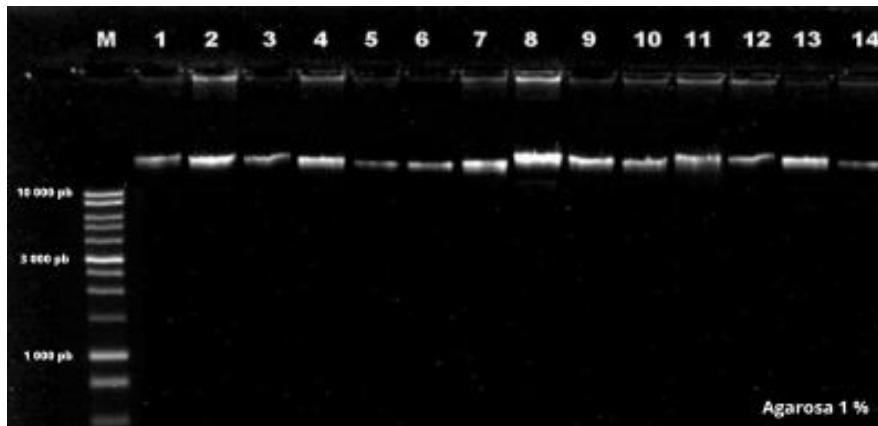
Mientras que en la calidad del ADN genómico extraído se evidenciaron bandas definidas y con un gran peso molecular que supera los 10 000 pb, las cuales indican una calidad aceptable para la amplificación por PCR y corrobora la cuantificación realizada previamente

3.2. Cuantificación y calidad de ADN

Tabla 1. Cuadros de cuantificación de ADN genómico de *Bacillus spp.*

Procedencia	Código	ng/μl	A260/A280	A260/A230
Huaura	UNDC_01	36,9	1,80	1,50
Huaura	UNDC_02	32	1,84	1,32
Huaura	UNDC_03	35	1,83	1,22
Huaura	UNDC_04	30,3	1,78	1,21
Huaura	UNDC_05	39,5	1,81	1,44
Huaura	UNDC_06	21,4	1,89	1,09
Huaura	UNDC_07	21,9	1,88	1,07
Chanchamayo	UNDC_08	27	1,85	1,03
Chanchamayo	UNDC_09	21,4	1,89	1,09
Chanchamayo	UNDC_10	36,3	1,82	1,08
Chanchamayo	UNDC_11	35,7	1,83	1,4
Chanchamayo	UNDC_12	29,7	1,78	0,98
Lunahuaná	UNDC_13	27,1	1,83	1,19
Lunahuaná	UNDC_14	30,8	1,79	1,23

Figura 1. Visualización del ADN genómico de aislamientos de *Bacillus spp.* mediante gel de agarosa al 1 %.

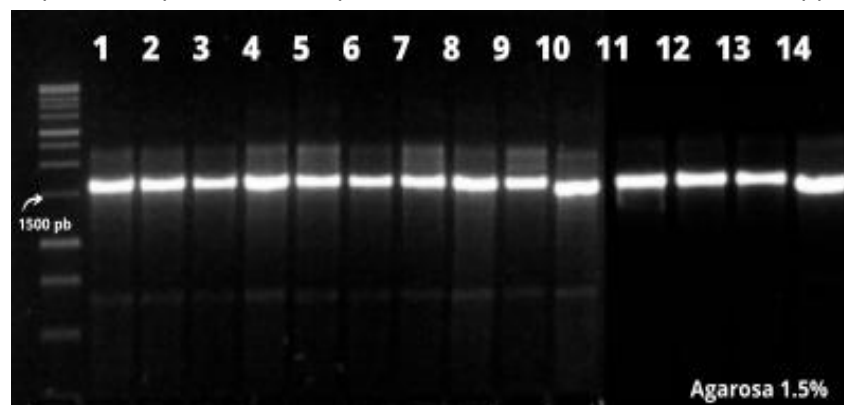


3.3. Amplificación por PCR con el gen 16S rRNA y secuenciamiento.

Los productos de la amplificación PCR de las 14 muestras se analizaron la técnica de gel agarosa al 1.5% para el análisis electroforético y se

observaron amplicones con un peso esperado de 1500 pb. Como resultado del secuenciamiento se obtuvieron 14 electroferogramas los cuales fueron analizados posteriormente.

Figura 2. Visualización en gel de agarosa al 1,5 % de fragmentos amplificados por PCR correspondientes a aislamientos de *Bacillus* spp.



3.4. Análisis bioinformático

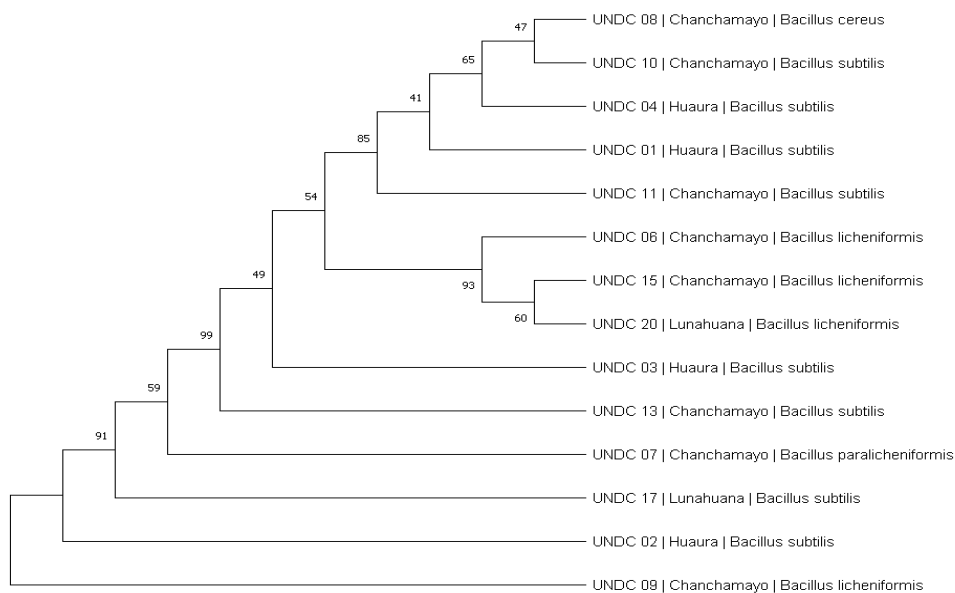
De acuerdo al análisis de identificación molecular con la plataforma BLAST, se identificaron, las especies de *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. paralicheniformis* y *B. cereus*, con un mínimo de 92,05% y máximo de 100 % de similitud.

La construcción del árbol filogenético revela la relación evolutiva y homología entre las 14 cepas trabajadas.

Tabla 2. Identificación molecular mediante el gen 16S RNAr con la plataforma BLAST.

Procedencia	Código de aislamiento	Especie identificada	Porcentaje de identidad
Huaura	UNDC_1	<i>B. subtilis</i>	98,85 %
Huaura	UNDC_2	<i>B. subtilis</i>	95,78 %
Huaura	UNDC_3	<i>B. subtilis</i>	98,08 %
Huaura	UNDC_4	<i>B. subtilis</i>	100,00 %
Huaura	UNDC_5	<i>B. licheniformis</i>	98,17 %
Huaura	UNDC_6	<i>B. paralicheniformis</i>	95,37 %
Huaura	UNDC_7	<i>B. cereus</i>	99,78 %
Chanchamayo	UNDC_8	<i>B. licheniformis</i>	92,04 %
Chanchamayo	UNDC_9	<i>B. subtilis</i>	99,55 %
Chanchamayo	UNDC_10	<i>B. subtilis</i>	98,22 %
Chanchamayo	UNDC_11	<i>B. subtilis</i>	97,89 %
Chanchamayo	UNDC_12	<i>B. licheniformis</i>	97,14 %
Lunahuaná	UNDC_13	<i>B. subtilis</i>	94,03 %
Lunahuaná	UNDC_14	<i>B. licheniformis</i>	98,90 %

Figura 3. Árbol filogenético con el uso del cebador 16S RNAr



4. Discusión

En la etapa de colecta se utilizó como muestra el suelo rizosférico de fresa para la obtención de las cepas de *Bacillus* spp, similar a un trabajo reportado en rizósfera de cactáceas (Chávez-Ambriz et al., 2016; Galvis & Moreno, 2014), por el contrario se han realizado estudios donde obtienen muestras de ácaros (Erban et al.,

2009), vegetales (Koilybayeva et al., 2023; Rovira, 2014), peces (Feria Zevallos et al., 2019), aves, bovinos (Florido et al., 2017), hongos (Liu et al., 2020) entre otros. En este trabajo se utiliza el suelo rizosférico por la alta diversidad de microbiota y las condiciones ambientales que propician el desarrollo del género *Bacillus* spp por su estrecha relación con las raíces de los

cultivos vegetales. (Rodríguez-Sahagún et al., 2020)

En la etapa de amplificación por PCR se utilizaron los cebadores universales del gen 16S RNAr (Abdulsalam et al., 2023) sin embargo otros autores utilizaron cebadores distintos como Bc-Rep-1, Bc-Rep-2 (Galvis & Moreno, 2014) y M-B1 (Galvis & Carrillo, 2015).

El secuenciamiento de tipo sanger que se utilizó en este trabajo fue eficiente para la identificación molecular, sin embargo, se puede mejorar los resultados utilizando secuenciamiento de tercera generación como la tecnología de Oxford Nanopore Technologies (Ciuffreda et al., 2021), su mayor ventaja es la longitud de lectura y la rapidez del proceso (Kumburu et al., 2023). Esto nos permitirá ampliar la base de datos, teniendo más puntos de muestreo y repeticiones de los mismos.

La caracterización molecular de especies fue de *B. subtilis* (Elegbeleye & Buys, 2020), *B. licheniformis* (Romo-Barrera et al., 2021), *B. paralicheniformis* (Du et al., 2019), *B. cereus* (Liu et al., 2020), a diferencia de otros autores que encontraron otro tipo de especies como *B. amyloliquefaciens*, *B. vallismortis*, *B. halotolerans* (Ying et al., 2022), *B. thuringiensis* (Rovira, 2014).

Finalmente el análisis filogenético permitió obtener el árbol mediante la aplicación del método de Neighbour Joining, alineado con el programa Clustal X y con los valores de bootstraps de 1000 repeticiones, similar al trabajo reportado de (Rovira, 2014; Wei Wang, 2009), sin embargo estos parámetros se pueden mejorar aumentando el número de cebadores para el gen 16S RNAr y el número de repeticiones utilizando un servidor especializado para análisis bioinformáticos.

5. Conclusiones

La caracterización molecular del género *Bacillus* spp. a través del análisis del gen 16S RNAr permitió la identificación de 1 cepa de *Bacillus cereus*, 1 cepa de *Bacillus paralicheniformis*, 4 cepas de *Bacillus licheniformis* y 8 cepas de

Bacillus subtilis; con un mínimo de 92,05% y máximo de 100 % de similitud en las regiones de Huaura, Chanchamayo y Cañete.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Nacional de Cañete por brindar las facilidades y el acceso necesarios para la publicación del artículo de revisión en su repositorio institucional, así como por fomentar el desarrollo de la investigación estudiantil.

Declaración de consentimiento informado

Todos los participantes otorgaron su consentimiento informado de manera voluntaria antes de su inclusión en la investigación.

Conflictos de interés

No se declara ningún conflicto de interés en relación con el presente estudio.

Referencias

- Abdulsalam, R. A., Ijabadeniyi, O. A., Cason, E. D., & Sabiu, S. (2023). Characterization of Microbial Diversity of Two Tomato Cultivars through Targeted Next-Generation Sequencing 16S rRNA and ITS Techniques. *Microorganisms*, 11(9), 2337. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092337>
- Aouadhi, C., Rouissi, Z., Kmiha, S., Mejri, S., & Maaroufi, A. (2016). Effect of sporulation conditions on the resistance of *Bacillus sporothermodurans* spores to nisin and heat. *Food Microbiology*, 54, 6-10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.005>
- Cattani, F., Barth, V. C., Nasário, J. S. R., Ferreira, C. A. S., & Oliveira, S. D. (2016). Detection and quantification of viable *Bacillus cereus* group species in milk by propidium monoazide quantitative real-time PCR. *Journal of Dairy Science*,

- 99(4), 2617-2624.
<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10019>
- Chávez-Ambriz, L. A., Hernández-Morales, A., Cabrera-Luna, J. A., Luna-Martínez, L., & Pacheco-Aguilar, J. R. (2016). Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactaceae). *Revista Argentina de Microbiología*, 48(4), 333-341.
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.09.001>
- Ciuffreda, L., Rodríguez-Pérez, H., & Flores, C. (2021). Nanopore sequencing and its application to the study of microbial communities. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 1497-1511.
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.02.020>
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J., & McGehee, M. R. (2019). Chapter 6—Polymerase Chain Reaction. En D. P. Clark, N. J. Pazdernik, & M. R. McGehee (Eds.), *Molecular Biology (Third Edition)* (Third Edition, pp. 168-198). Academic Cell.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813288-3.00006-9>
- Du, Y., Ma, J., Yin, Z., Liu, K., Yao, G., Xu, W., Fan, L., Du, B., Ding, Y., & Wang, C. (2019). Comparative genomic analysis of *Bacillus paralicheniformis* MDJK30 with its closely related species reveals an evolutionary relationship between *B. paralicheniformis* and *B. licheniformis*. *BMC Genomics*, 20(1), 283.
<https://doi.org/10.1186/s12864-019-5646-9>
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Shurigin, V. V., Hashem, A., & Abd_Allah, E. F. (2017). Endophytic Bacteria Improve Plant Growth, Symbiotic Performance of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) and Induce Suppression of Root Rot Caused by *Fusarium solani* under Salt Stress. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1887.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01887>
- Elegbeleye, J. A., & Buys, E. M. (2020). Molecular characterization and biofilm formation potential of *Bacillus subtilis* and *Bacillus velezensis* in extended shelf-life milk processing line. *Journal of Dairy Science*, 103(6), 4991-5002.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17919>
- Erban, T., Nesvorna, M., Erbanova, M., & Hubert, J. (2009). *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* control of synanthropic mites (Acari: Acaridida) under laboratory conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 49(4), 339-346.
<https://doi.org/10.1007/s10493-009-9265-z>
- FAO. (2015). *Technical Platform on the Measurement and Reduction of Food Loss and Waste*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
<https://www.fao.org/platform-food-loss-waste/en/>
- Feria Zevallos, M. A., Castañeda, A., Toledo, O., Caballero, D., Cueva, M., & Cedeño, V. (2019). Caracterización molecular ómica de una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* aislada de la microbiota del paiche *Arapaima gigas* con actividad antagonista contra bacterias patógenas de peces. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(2), 908-922.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.15407>
- Florido, G. M., Rondón, A. J., Pérez, M., Arteaga, F., Bocourt, R., Portilla, Y., Rodríguez, M., Pérez, Y., Beruvides, A., & Laurencio, M. (2017). Methodology for the isolation, identification and selection of *Bacillus* spp. Strains for the preparation of animal additives. Metodología para el aislamiento, identificación y selección de cepas de *Bacillus* spp. Para la elaboración de aditivos zootécnicos. *Cuban Journal of*

- Agricultural Science*, 51(2).
- Galvis, F., & Carrillo, M. (2015). Identificación y Caracterización Molecular de Aislados de *Burkholderia glumae*: Agente Causante del Añublo Bacterial en el Cultivo de Arroz. *Información tecnológica*, 26(3), 33-40. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000300006>
- Galvis, F., & Moreno, L. (2014). Caracterización molecular mediante rep-PCR de aislados nativos de *Bacillus thuringiensis*, obtenidos de muestras de suelo. *Agronomía Costarricense*, 1(38), 223-229. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242014000100016
- Gao, H., Xu, X., Dai, Y., & He, H. (2016). Isolation, Identification and Characterization of *Bacillus subtilis* CF-3, a Bacterium from Fermented Bean Curd for Controlling Postharvest Diseases of Peach Fruit. *Food Science and Technology Research*, 22(3), 377-385. <https://doi.org/10.3136/fstr.22.377>
- Huertas, D. (2013). *Caracterización molecular de cepas de Bacillus thuringiensis con propiedades entomocidas, para vectores transmisores de enfermedades metaxénicas (dengue)* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/3513>
- Koilybayeva, M., Shynikul, Z., Ustenova, G., Abzaliyeva, S., Alimzhanova, M., Amirkhanova, A., Turgumbayeva, A., Mustafina, K., Yeleken, G., Raganina, K., & Kapsalyamova, E. (2023). Molecular Characterization of Some *Bacillus* Species from Vegetables and Evaluation of Their Antimicrobial and Antibiotic Potency. *Molecules*, 28(7), 3210. <https://doi.org/10.3390/molecules28073210>
- Kumburu, H. H., Shayo, M., Van Zwetslaar, M., Njau, J., Kuchaka, D. J., Ignas, I. P., Wadugu, B., Kasworm, R., Masaki, L. J., Hallgren, M. B., Clausen, P. T. L. C., Mmbaga, B. T., Aarestrup, F. M., & Sonda, T. B. (2023). Nanopore sequencing technology for clinical diagnosis of infectious diseases where laboratory capacity is meager: A case report. *Heliyon*, 9(7), e17439. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17439>
- Larrea-Izurieta, I., Falconí Borja, C., & Arcos-Andrade, A. (2015). Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* spp. Con actividad contra *Tetranychus urticae* Koch en cultivos comerciales de rosas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(2), 140-148. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n2.54291>
- Lastochkina, O., Pusenkova, L., Yuldashev, R., Babaev, M., Garipova, S., Blagova, D., Khairullin, R., & Aliniaiefard, S. (2017). Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 121, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.020>
- Liu, C., Yu, P., Yu, S., Wang, J., Guo, H., Zhang, Y., Zhang, J., Liao, X., Li, C., Wu, S., Gu, Q., Zeng, H., Zhang, Y., Wei, X., Zhang, J., Wu, Q., & Ding, Y. (2020). Assessment and molecular characterization of *Bacillus cereus* isolated from edible fungi in China. *BMC Microbiology*, 20(1), 310. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01996-0>
- Lorenz, L., Lins, B., Barrett, J., Montgomery, A., Trapani, S., Schindler, A., Christie, G. E., Cresawn, S. G., & Temple, L. (2013). Genomic characterization of six novel *Bacillus pumilus* bacteriophages. *Virology*, 444(1-2), 374-383. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.07>

.004

- Maksimov, I. V., Veselova, S. V., Nuzhnaya, T. V., Sarvarova, E. R., & Khairullin, R. M. (2015). Plant growth-promoting bacteria in regulation of plant resistance to stress factors. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62(6), 715-726.
<https://doi.org/10.1134/S1021443715060114>
- Rahman, M. Z., Uematsu, S., Coffey, M. D., Uzuhashi, S., Suga, H., & Kageyama, K. (2014). Re-evaluation of Japanese Phytophthora isolates based on molecular phylogenetic analyses. *Mycoscience*, 55(4), 314-327.
<https://doi.org/10.1016/j.myc.2013.11.005>
- Rodríguez-Sahagún, A., Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., & Clarenc Aarland, R. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *REVISTA TERRA LATINOAMERICANA*, 38(2), 333-345.
<https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
- Rodríguez-Tolosaa, R., Cifuentes-Vega, R., & Hernández-Fernández, J. (2023). Caracterización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* como método para predecir la susceptibilidad sobre insectos lepidópteros, dípteros y coleópteros plaga de la agricultura. *Revista Mutis*, 13(1), 1-34.
<https://doi.org/10.21789/22561498.1963>
- Romo-Barrera, C. M., Castrillón-Rivera, L. E., Palma-Ramos, A., Castañeda-Sánchez, J. I., & Luna-Herrera, J. (2021). *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis*, Probiotics That Induce the Formation of Macrophage Extracellular Traps. *Microorganisms*, 9(10), 2027.
<https://doi.org/10.3390/microorganism9102027>
- Rovira, A. G. P. (2014). *Aislamiento y caracterización de cepas nativas de Bacillus thuringiensis con miras al desarrollo de un bioinsecticida* [Tesis de licenciatura, Universidad ORT].
<https://www.colibri.udelar.edu.uy/jsp/ui/handle/20.500.12008/1593>
- Suárez, L. Y., & Yañez, L. F. (2020). 16S rRNA as an applied tool in the molecular characterization of genera and species of bacteria. *Respuestas*, 25(1), 127-137.
<https://doi.org/10.22463/0122820X.2430>
- Tae, H., Karunasena, E., Bavarva, J. H., & Garner, H. R. (2014). Updating microbial genomic sequences: Improving accuracy & innovation. *BioData Mining*, 7(1), 25. <https://doi.org/10.1186/1756-0381-7-25>
- Valdez-Nuñez, R. A., Ríos-Ruiz, W. F., Ormeño-Orrillo, E., Torres-Chávez, E. E., & Torres-Delgado, J. (2020). Caracterización genética de bacterias endofíticas de arroz (*Oryza sativa* L.) con actividad antimicrobiana contra *Burkholderia glumae*. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(4), 315-327.
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.12.002>
- Wei Wang, M. S. (2009). Phylogenetic relationships between *Bacillus* species and related genera inferred from 16S rDNA sequences. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(3), 505-521.
<https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000300013>
- Ying, T., Wu, P., Gao, L., Wang, C., Zhang, T., Liu, S., & Huang, R. (2022). Isolation and characterization of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* and its effect on strawberry preservation. *LWT*, 165, 113712.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113712>