

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**  
**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**CARRERA DE MICROBIOLOGÍA**

**Aislamiento y detección molecular de las poblaciones del agente etiológico de la bacteriosis vascular (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*) en yuca, en cultivos de la provincia de Sucumbíos, Ecuador**

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Microbiología**

**EMILY ALEJANDRA LÓPEZ ZAVALA**

**Quito, 2023**

## CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Microbiología de la candidata Emily Alejandra López Zavala ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Mtr. Jeniffer Yáñez Altuna', is written over a horizontal line.

**Mtr. Jeniffer Yáñez Altuna**

Directora de la Disertación

Quito, 16 junio 2023

## **DEDICATORIA**

A Dios, mi familia y amigos, por su cariño y apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a mis padres por su esfuerzo, sacrificio, cariño y apoyo incondicional, sin ustedes nada de esto sería posible, gracias por anteponer siempre mis necesidades y sueños y por celebrar cada victoria junto a mí y apoyarme en cada fracaso. A mi hermana por creer ciegamente en mí y alegrarme la vida aún en los peores momentos. Agradezco a mi familia y amigos por motivarme a continuar cada vez que quería rendirme.

A mi directora de tesis Mtr. Jeniffer Yáñez Altuna mi más profundo agradecimiento por darme la oportunidad de participar en este proyecto de investigación, por su apertura y confianza en mis habilidades, llevaré siempre conmigo sus enseñanzas académicas y personales, pero sobre todo gracias por guiarme y corregirme siempre con paciencia y afecto.

Agradezco al PhD. Carlos Andrés Zárate por su guía excepcional durante toda la investigación, por acompañarme durante todo este tiempo y ser mi mentor, gracias por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias, gracias por su paciencia y por brindarme las herramientas necesarias para desarrollar esta investigación, sin su dedicación esto no sería posible.

Al PhD. Martín Marcial, por sus consejos y su ayuda incondicional, sin horarios, gracias por ser un ejemplo y un mentor para mí, su pasión por enseñar, así como su dedicación y compromiso, han dejado en mí una huella imborrable.

## MANUSCRITO PARA LA PUBLICACIÓN

### Revista

Phytopathology

### Título

Aislamiento y detección molecular de las poblaciones del agente etiológico de la bacteriosis vascular (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*) en yuca, en cultivos de la provincia de Sucumbíos, Ecuador **Autores**

Emily Alejandra López Zavala\*, Jeniffer Marcela Yáñez Altuna\*\*, Carlos Andrés Zárate Chavez

\*\*\*

### Correo electrónico

\*ealopez@puce.edu.ec, \*\*jyanez989@puce.edu.ec, \*\*\*cazaratec@gmail.com

### Dirección

Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico, Carrera de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

El siguiente trabajo de investigación se presenta en el formato de la *Phytopathology* y a partir de la siguiente página.

Información para autores: <https://apsjournals.apsnet.org/page/authorinformation>

1 **Aislamiento y detección molecular de las poblaciones del agente etiológico**  
2 **de la bacteriosis vascular (*Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*) en yuca, en**  
3 **cultivos de la provincia de Sucumbíos, Ecuador**

4 Emily López<sup>1</sup>, Jeniffer Yáñez<sup>1</sup>, Carlos Zárate<sup>2</sup>

5 <sup>1</sup>Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad de Ciencias Exactas y  
6 Naturales. Av. 12 de octubre 1076, Quito, Ecuador.

7 <sup>2</sup>PHIM, Université Montpellier, CIRAD, INRAe, IRD, Institut Agro, Montpellier,  
8 France

9 \*Autor de correspondencia: E.López ; Email: ealopez@puce.edu.ec

10 **Resumen**

11

12 El cultivo de yuca representa una importante fuente de alimentos e ingresos  
13 económicos en diversos países alrededor del mundo, no obstante, puede verse  
14 seriamente afectado por diversas enfermedades, entre ellas, se destaca el añublo  
15 bacteriano de la yuca o bacteriosis vascular de la yuca (CBB), que se considera  
16 como la enfermedad bacteriana más devastadora y problemática de la producción  
17 de yuca pues puede ocasionar pérdidas totales en las cosechas. El objetivo de este  
18 trabajo de investigación es aislar y detectar *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*,  
19 agente etiológico de la bacteriosis vascular, en muestras de yuca (*Manihot*  
20 *esculenta*) provenientes de la región de Sucumbíos, mediante técnicas de análisis  
21 molecular. El aislamiento y confirmación de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* a  
22 partir de las muestras de yuca recolectadas se realizó mediante el cultivo selectivo  
23 en medio LPGA, la identificación molecular se llevó a cabo mediante PCR. Se  
24 identificó exitosamente la presencia de este patógeno en los cultivos de la Amazonía  
25 ecuatoriana por lo que este trabajo constituye el primer reporte de CBB en esta  
26 región ecuatoriana y tiende las bases para comenzar a entender la epidemiología y

27 el impacto de la enfermedad, con el fin de establecer estrategias efectivas para  
28 prevenir y controlar la propagación del patógeno.

29 **Palabras clave:** Bacteriosis vascular de la yuca, *Xanthomonas phaseoli* pv.  
30 *manihotis*, *Manihot esculenta*, LPGA, PCR.

31 **Financiamiento:** Este proyecto de investigación se realizó gracias al financiamiento  
32 de: Pontificia Universidad Católica del Ecuador; Institut de Recherche pour le  
33 Développement, IRD y Universidad de los Andes, Colombia.

#### 34 **Agradecimientos**

35 Agradecemos al Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD) y a Adriana  
36 Bernal (Universidad De los Andes, Colombia) por su colaboración económica y por  
37 su experiencia y conocimientos.

#### 38 **Introducción**

39

40 El cultivo de yuca representa una importante fuente de alimentos e ingresos  
41 económicos en diversos países alrededor del mundo. Al igual que otros cultivos,  
42 diferentes factores bióticos (por ejemplo, plagas y patógenos) y abióticos (por  
43 ejemplo, baja disponibilidad de agua y nutrientes en el suelo) tienen un impacto  
44 negativo sobre su desempeño. En el caso específico de la yuca, se estima que el  
45 cambio climático disminuirá su capacidad para defenderse contra plagas y  
46 patógenos propios del cultivo (Mfitumukiza et al., 2017b). Entre las enfermedades  
47 de la yuca, los patógenos virales y bacterianos causan importantes pérdidas de  
48 rendimiento y son de difícil control (Lin et al. 2019). La enfermedad bacteriana de  
49 mayor relevancia para el cultivo de la yuca es el añublo bacteriano de la yuca o la

50 bacteriosis vascular de la yuca (*Cassava Bacterial Blight*, CBB por sus siglas en  
51 inglés) (Zárate-Chaves et al. 2021).

52 La CBB puede causar pérdidas de la cosecha que, bajo condiciones apropiadas  
53 para el desarrollo de la enfermedad, pueden ser totales (Verdier et al., 2012). De  
54 manera que, desde la década de los 70 se inició el estudio del agente etiológico de  
55 esta enfermedad y hacia la década de los 90 se generaron diversas estrategias de  
56 control sanitario y cultural contra el patógeno, *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*  
57 (Xpm). Xpm es una bacteria Gram negativa, motil que infecta los tejidos vasculares  
58 de la yuca produciendo síntomas característicos como: manchas angulares, añublo,  
59 marchitamiento y exudados (Zárate-Chaves et al. 2021). Si bien estos síntomas  
60 característicos se detectaron por primera vez en Brasil, actualmente, se encuentra  
61 en más de 26 países, alrededor del mundo (CABI, 2022), y su distribución es  
62 característica de una enfermedad endémica.

63 En Ecuador, no existen reportes de la presencia de la bacteriosis vascular en los  
64 cultivos de yuca, a pesar de ser un cultivo importante y de que su producción  
65 beneficia a un gran número de personas, especialmente en la Amazonía  
66 ecuatoriana; la falta de información e investigaciones sobre los microorganismos  
67 patógenos de este cultivo representan un de los mayores desafíos para los  
68 agricultores que la cultivan. Sin embargo, aunque variable, investigaciones en otros  
69 países demuestran que la incidencia y severidad de esta enfermedad son altas  
70 (Zárate-Chaves et al. 2021), esto empeora cuando no existen protocolos de  
71 detección, prevención y control apropiados. Ahí radica la importancia de determinar  
72 si la enfermedad está presente en Ecuador, solo así podremos determinar su

73 impacto. Por ello esta investigación permitirá aislar y detectar *Xanthomonas*  
74 *phaseoli* pv. *manihotis*, agente etiológico de la bacteriosis vascular, en muestras de  
75 yuca recolectadas región de Sucumbíos, mediante técnicas de análisis molecular.

## 76 **Materiales y métodos**

77 El muestreo se llevó a cabo en el mes de octubre del año 2022 en la provincia de  
78 Sucumbíos, entre los ríos Napo y Eno (de 77°00'14.5"W a 76°36'48.2"W y de  
79 0°01'31.3"S a 0°24'47.0"S). En cada campo, se trazaron las diagonales entre los  
80 extremos del terreno con el fin de cuantificar la incidencia de la enfermedad sobre  
81 al menos 20 plantas. Durante la cuantificación, se tomaron muestras de hojas  
82 (unidad de muestreo: una hoja por planta enferma) que presentaban los síntomas  
83 canónicos de la bacteriosis vascular. Las hojas se colectaron en bolsas de papel y  
84 se etiquetaron de acuerdo al siguiente esquema: **Número de campo,**  
85 **coordenadas, variedad de yuca** (determinada fenotípicamente).

86 Las muestras recolectadas se conservaron en un sitio fresco y seco hasta su  
87 procesamiento en el laboratorio de Fitopatología y Control Biológico de la PUCE,  
88 localizado en Quito-Ecuador.

## 89 **Aislamiento de bacterias**

90 A partir del material vegetal colectado, de cada hoja se recortaron hasta tres  
91 segmentos que presentaban lesiones angulares y marchitez. Cada segmento de  
92 hoja se dispuso en un microtubo de 2 mL con tres perlas metálicas estériles. La  
93 disrupción total del tejido se realizó utilizando un agitador vórtex a 200 rpm.  
94 Posteriormente, a cada muestra se agregaron 300 µL de una solución estéril de

95 MgCl<sub>2</sub> 10 mM, se homogeneizó nuevamente en vórtex y se sembró utilizando la  
96 técnica de aislamiento por agotamiento en medio de cultivo LPGA (5 gL<sup>-1</sup> de  
97 dextrosa, 5 gL<sup>-1</sup> de extracto de levadura, 5 gL<sup>-1</sup> de peptona y 15 gL<sup>-1</sup> de agar)  
98 suplementado con cefalexina y nistatina. Los aislamientos se incubaron a 28 °C  
99 durante 24 a 48 horas (Rache et. al, 2019). De cada plato Petri inoculado, se  
100 seleccionó una colonia aislada, circular de borde entero, de color blanco o crema,  
101 de aspecto brillante y mucoide para transferirla a medio de cultivo líquido LPG (5  
102 gL<sup>-1</sup> de dextrosa, 5 gL<sup>-1</sup> de extracto de levadura y 5 gL<sup>-1</sup> de peptona) suplementado  
103 con cefalexina. Los cultivos líquidos se incubaron a 28°C en agitación durante 24  
104 horas.

#### 105 **Conservación de aislamientos bacterianos**

106 A partir del cultivo líquido previamente realizado, cada aislamiento se conservó en  
107 un microtubo de 2 mL estéril agregando 1000 µL de cultivo y una cantidad apropiada  
108 de glicerol estéril para obtener un porcentaje final de 30%. Las suspensiones con el  
109 crioprotector se homogeneizaron en vórtex y se conservaron en ultracongelación a  
110 -80° C.

#### 111 **Diagnóstico molecular**

112 El ADN bacteriano se obtuvo a partir de colonias reaisladas en LPGA provenientes  
113 de los aislamientos conservados. Se utilizó la técnica de *boiling* descrita por Rache  
114 et al. (2019). Las amplificaciones por PCR se llevaron a cabo en un termociclador  
115 Applied Biosystems 2720, siguiendo el protocolo de diagnóstico por PCR dúplex  
116 desarrollado por Flores et al. (2019). Los cebadores utilizados fueron: Xc1F (5'-

117 GACCACAAAGGTGGTCTCGT-3'); Xc1R (5'-CAGGCGGTGATACTGACGT-3');  
118 Xam1F (5'-TATAGGGCAGCGCTACGAGT-3') y Xam1R (5'-  
119 ATCGGCTATGCTGAACCACT-3'). El protocolo de amplificación consistió en 2 min  
120 de desnaturalización a 95 °C, 35 ciclos de 45 s de desnaturalización a 95 °C, 45 s  
121 de anillamiento a 61 °C y 1,5 min de extensión a 72 °C, con una extensión final a 72  
122 °C durante 5 min. Los productos de amplificación por PCR se sometieron a  
123 electroforesis en geles de agarosa al 1,5 % en TAE 0.5X a 70 V durante 40 minutos  
124 y se visualizaron en un fotodocumentador BIORAD utilizando SYBR® Safe (Life  
125 Technologies, Carlsbad, CA, U.S.A.) como colorante de tinción. El análisis gráfico  
126 de los geles de agarosa para determinar el tamaño de las bandas de amplificación  
127 obtenidas, se realizó en el programa Image J (Schindelin et al. 2012).

## 128 **Resultados**

### 129 **Muestreo**

130 El muestreo en la región de Sucumbíos incluyó la visita a 64 campos que contenían  
131 plantas de yuca sembradas por los agricultores/indígenas. La determinación de la  
132 incidencia basada en síntomas en ocho de los campos muestreados resultó en  
133 porcentajes de incidencia de hasta 93.4%, con una media de 49.9% y una mediana  
134 de 50%. Se recolectó un total de 144 hojas de plantas sintomáticas en 18 de los  
135 campos visitados (Figura 1 y Tabla 1). En la **Figura 2** se resume el número de  
136 muestras recolectadas por cada campo y sus atributos.

### 137 **Aislamiento de bacterias**

138 Noventa y tres de las 144 muestras analizadas resultaron en el aislamiento de  
139 colonias bacterianas resistentes a cefalexina, circulares de borde entero, de color  
140 blanco o crema, de aspecto brillante y mucoides. La **Figura 3** resume los datos de  
141 los aislamientos realizados y presenta fotografías representativas de los  
142 aislamientos en medio sólido.

### 143 **Diagnóstico molecular**

144 La utilización de la PCR dúplex de diagnóstico molecular desarrollada por Flores et  
145 al. (2019) permite la identificación de Xpm o *Xanthomonas cassavae* sobre hojas de  
146 yuca que presentan lesiones angulares. Los cebadores incluidos en este protocolo  
147 amplifican una región genómica única en cada uno de los patógenos, cuyo tamaño  
148 permite discriminar de qué agente etiológico (en conjunto con características  
149 fenotípicas) se trata. La electroforesis de las PCR realizadas sobre las 93 muestras  
150 evidenciaron bandas de amplificación con el tamaño adecuado, 200 pb, para Xpm  
151 en 81 de éstas. La **Figura 4** presenta un gel representativo de los resultados aquí  
152 descritos.

### 153 **Discusión**

154 *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis* (Xpm) es una bacteria Gram negativa móvil  
155 causante de la bacteriosis vascular de la yuca, una enfermedad endémica del cultivo  
156 de yuca en África y Latinoamérica (Zárate-Chaves et al. 2021). Esta enfermedad se  
157 caracteriza por síntomas en hojas, pecíolos y tallos, lo cuales incluyen manchas  
158 angulares, lesiones necróticas, deformaciones, añublo y exudados del tallo (Zárate-  
159 Chaves et al. 2021). Teniendo en cuenta que aun cuando en etapas tempranas la

160 sintomatología visible de la enfermedad puede parecer poco amenazadora, si las  
161 condiciones ambientales del medio son propicias, la severidad de la enfermedad  
162 puede empeorar hasta alcanzar pérdidas del 100% de los cultivos provocando un  
163 impacto significativo en la producción de yuca, lo que a su vez afecta a la seguridad  
164 alimentaria y económica de las comunidades que dependen de este cultivo (Verdier,  
165 2002).

166

167 Xpm es considerada como una bacteria cuarentenaria no presente en Ecuador  
168 (Agrocalidad, 2022, Resolución 0202) por ello no existe registros detallados de la  
169 presencia de este patógeno en los cultivos de yuca, en ninguna de las regiones que  
170 se cultiva. Algunas regiones por sus características climáticas son de especial  
171 importancia puesto que, como lo menciona los autores Toure et al. (2020), las  
172 condiciones ambientales afectan en gran medida la respuesta de la planta al  
173 patógeno. Sus ensayos, en diferentes zonas agroecológicas de Costa de Marfil,  
174 demuestran que elevadas temperaturas y niveles de humedad favorecen el  
175 crecimiento de Xpm y aceleran el apareamiento de síntomas. Por lo tanto, la región  
176 Amazónica por su clima y temperatura es una región con especial relevancia para  
177 el estudio de este patógeno.

178 Zinsou et al. (2005) destaca la importancia de realizar investigaciones en aquellos  
179 ambientes que por sus características favorecen el desarrollo de síntomas estables  
180 y aumentan la probabilidad de que la enfermedad alcance una alta gravedad. Esto  
181 contrasta con lo mencionan Banito et al. (2008) en su estudio demuestran que la  
182 enfermedad CBB está altamente condicionada por el ambiente, puesto que existe  
183 una estrecha relación entre el ambiente y la resistencia a este patógeno microbiano.

184 Adicionalmente, los resultados en la detección de CBB pueden verse alterados por  
185 esta relación ambiente – patógeno. Dixon et al. (2002) concluyen y enfatizan que  
186 estas interacciones son determinantes en la reacción de la yuca a la enfermedad,  
187 así por ejemplo, realizar un muestreo en temporada de lluvias a diferencia de  
188 temporada en las que las precipitaciones son bajas puede dificultar la selección  
189 apropiada de las muestras, debido a que la lluvia y la humedad reducen la  
190 supervivencia del patógeno, enmascarando los resultados, por ello es común  
191 observar que el índice de severidad de CBB es considerablemente menor en las  
192 regiones de bosques húmedos.

193

194 La yuca se consume en todas las provincias del Ecuador, sin embargo, su  
195 producción se concentra en la región amazónica siendo Sucumbíos la segunda  
196 provincia con mayor porcentaje de superficie destinada al cultivo de yuca (Ministerio  
197 de Agricultura y Ganadería, 2023). Además, la yuca es un producto alimenticio que  
198 ha formado parte de la dieta de los habitantes de la región, así como también de las  
199 prácticas ancestrales de las comunidades indígenas. Aquí radica la importancia de  
200 detectar y estudiar este patógeno en la Amazonía ecuatoriana. El muestreo  
201 realizado en este estudio demuestra la presencia de la enfermedad y el patógeno  
202 en esta ecozona, con incidencias que varían entre 16.7% y 93.4%. Esta alta  
203 variación entre las incidencias en una misma región puede ocasionarse por  
204 múltiples factores, entre ellos Toure et al. (2020) destacan las reacciones de  
205 defensa de las variedades de yuca, niveles bajos de inóculo en estas zonas y otros  
206 factores de estrés abiótico.

207

208 Aun cuando la caracterización fenotípica y del morfotipo de las colonias puede  
209 contribuir en gran medida a la identificación de este agente patógeno, es de vital  
210 importancia realizar análisis moleculares para confirmar su identidad. Así pues, los  
211 ensayos de PCR dúplex implementados suponen el primer paso para la  
212 confirmación de la identidad del patógeno. Flores et al. (2019) indican que esta PCR  
213 puede discriminar entre cepas de *Xpm* y *Xanthomonas cassavae*, patógenos del  
214 mismo género que producen lesiones angulares similares sobre las hojas, y en  
215 muestras de material vegetal con concentraciones bajas de cualquiera de los dos  
216 patógenos. Los resultados de este estudio muestran que la selección con criterios  
217 fisiológicos, como la resistencia natural a la cefalexina, y morfológicos, como el  
218 color, la definición de los bordes y la textura de las colonias, resulta en un alto  
219 porcentaje de positivos (87% de los aislamientos) para *Xpm* en esta PCR dúplex.  
220 Existen otras metodologías de diagnóstico e identificación (Zárate-Chaves et al.  
221 2021), incluidas otras PCR (Bernal-Galeano et al. 2018), para este patógeno, las  
222 cuales sería interesante aplicar en el futuro a los mismos aislamientos, con el fin de  
223 comparar estos métodos.

224

## 225 **Conclusiones**

226 En este trabajo se evidenció la presencia de la bacteriosis vascular de la yuca (CBB)  
227 en al menos 18 campos agrícolas de la provincia de Sucumbíos, Ecuador. De 144  
228 plantas sintomáticas muestreadas, se obtuvieron 93 aislamientos con morfología  
229 típica de *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*, 81 (87%) de los cuales resultaron  
230 positivos a una prueba diagnóstica por PCR dúplex. Tales aislamientos se

231 mantienen en crioconservación en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador,  
232 en la primera colección nacional de este fitopatógeno. Bajo condiciones ideales para  
233 la bacteria, la CBB puede afectar seriamente el rendimiento de los cultivos de yuca,  
234 lo cual es una amenaza para la seguridad alimentaria de las comunidades que  
235 dependen de este cultivo. Este trabajo constituye el primer reporte de CBB en esta  
236 región ecuatoriana y tiende las bases para comenzar a entender la epidemiología y  
237 el impacto de la enfermedad, con el fin de preparar estrategias efectivas para  
238 prevenir y controlar la propagación del patógeno.

239

#### 240 **Agradecimientos**

241 Agradecemos al Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD) y a Adriana  
242 Bernal (Universidad De los Andes, Colombia) por su colaboración económica y por  
243 su experiencia y conocimientos.

244

#### 245 **Referencias**

246 Agrocalidad (2022). Resolución 0202 dado en Quito, D.M. 11 de agosto del 2022.

247 Recuperado de [https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/09/Re](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/09/Resoluci%C3%B3n-202-Listado-plagas-cuarentenarias.pdf)  
248 [soluci%C3%B3n-202-Listado-plagas-cuarentenarias.pdf](https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/09/Resoluci%C3%B3n-202-Listado-plagas-cuarentenarias.pdf)

249 Banito, A., Kpemoua, K. E., & Wydra, K. (2008). Expression of resistance and  
250 tolerance of cassava genotypes to bacterial blight determined by genotype x  
251 environment interactions / Resistenz und Toleranz von Maniok gegenüber

- 252 Bakterienbrand in Sorte-Umwelt-Interaktionen. *Journal of Plant Diseases and*  
253 *Protection*, 115(4), 152-161.
- 254 Bernal-Galeano, V., Ochoa, J. C., Trujillo, C., Rache, L., Bernal, A., and López  
255 Carrascal, C. E. 2018. Development of a multiplex nested PCR method for detection  
256 of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Cassava. *Trop. Plant Pathol.* 43:341–  
257 350 Available at: <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0214-4>.
- 258 CABI. (2021). *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis* (cassava bacterial blight)  
259 *CABI Compendium*. Recuperado 15 de junio de 2023, de  
260 <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.56952>
- 261 Dixon, A. G. O., Ngeve, J. M., & Nukenine, E. N. (2002). Genotype x environment  
262 Effects on Severity of Cassava Bacterial Blight Disease caused by *Xanthomonas*  
263 *axonopodis* pv. *Manihotis*. *European Journal of Plant Pathology*, 108(8), 763-770.  
264 <https://doi.org/10.1023/A:1020876019227>
- 265 Flores, C., Zarate, C., Triplett, L., Maillot-Lebon, V., Moufid, Y., Kanté, M., et al. 2019.  
266 Development of a duplex-PCR for differential diagnosis of *Xanthomonas phaseoli*  
267 pv. *manihotis* and *Xanthomonas cassavae* in cassava (*Manihot esculenta*). *Physiol.*  
268 *Mol. Plant Pathol.* 105:34–46 Available at:  
269 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576517303259>.
- 270 Mbaringong, G. A., Nyaboga, E. N., Wang, V., & Kanduma, E. (2017). Evaluation of  
271 Selected Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Cultivars Grown in Kenya for  
272 Resistance to Bacterial Blight Disease. *World Journal of Agricultural Research*, 5(2),  
273 Article 2.

274 Lin, Z. J. D., Taylor, N. J., and Bart, R. 2019. Engineering Disease-Resistant  
275 Cassava. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. Available at:  
276 [http://cshperspectives.cshlp.org/content/early/2019/06/10/cshperspect.a034595.ab](http://cshperspectives.cshlp.org/content/early/2019/06/10/cshperspect.a034595.abstract)  
277 [stract](http://cshperspectives.cshlp.org/content/early/2019/06/10/cshperspect.a034595.abstract).

278 Rache, L., Blondin, L., Flores, C., Trujillo, C., Szurek, B., Restrepo, S., et al. 2019.  
279 An Optimized Microsatellite Scheme for Assessing Populations of *Xanthomonas*  
280 *phaseoli* pv. *manihotis*. *Phytopathology*. 109:859–869 Available at:  
281 <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-18-0210-R>.

282 Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T.,  
283 et al. 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat. Methods*.  
284 9:676–682 Available at: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>.

285 Toure, H. M. A. C., Ehui, K. J. N., Abo, K., & Kone, D. (2020). Four years assessment  
286 of Cassava Bacterial Blight expression according to weather conditions in Côte  
287 d'Ivoire. *SN Applied Sciences*, 2(7), 1301. [https://doi.org/10.1007/s42452-020-3135-](https://doi.org/10.1007/s42452-020-3135-z)  
288 [z](https://doi.org/10.1007/s42452-020-3135-z)

289 Verdier, V. (2002). Bacteriosis Vascular (o Añublo Bacteriano) de la Yuca Causada  
290 por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. En B. Ospina, & H. Cevallos, *La yuca*  
291 *en el tercer Milenio* (pág. 148). Colombia: Centro Internacional de Agricultura  
292 Tropical - CIAT.

293 Zárate-Chaves, C. A., Gómez de la Cruz, D., Verdier, V., López, C. E., Bernal, A.,  
294 and Szurek, B. 2021. Cassava diseases caused by *Xanthomonas phaseoli* pv.

295 *manihotis* and *Xanthomonas cassavae*. Mol. Plant Pathol. 22:1520–1537 Available  
296 at: <https://doi.org/10.1111/mpp.13094>.

297

298

**Firma del (la) estudiante y fecha:**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Emily Alejandra López Zavala", written over a horizontal line.

Emily Alejandra López Zavala

Quito, 16 de junio 2023

**Firma del director (a) de disertación y fecha:**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Jeniffer Marcela Yáñez Altuna", written over a horizontal line.

Mtr. Jeniffer Marcela Yáñez Altuna

Quito, 23 de junio 2023

**Firma del coordinador (a) de la carrera y fecha:**

Mtr. Sonia Margarita Estrella Vásquez

Quito,

**Firma del decano (a) y fecha:**

Mgtr. Diego Guevara

**Quito**

299 **Tablas y Figuras \***

300 **Tabla 1. Atributos de los campos analizados en la provincia de**  
 301 **Sucumbíos, Ecuador.**

<b>N° de campo</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>	<b>Presencia de CBB</b>	<b>Incidencia de CBB</b>
Campo 1	-0.025363	-76.971849	Positivo	93.4% (28/30)
Campo 2	-0.049352	-77.004014	Positivo	50% (11/22)
Campo 3	-0.232905	-76.616864	Positivo	20% (4/20)
Campo 4	-0.233313	-76.61385	Positivo	40% (8/20)
Campo 5	-0.243526	-76.613382	Positivo	<10%
Campo 6	-0.413047	-76.626049	Positivo	58.8% (10/17)
Campo 7	-0.411367	-76.623183	Positivo	65% (13/20)
Campo 8	-0.407771	-76.62474	Positivo	16.7% (2/12)
Campo 9	-0.406278	-76.625882	Positivo	55% (11/20)
Campo 10	-0.405641	-76.623673	Positivo	

302

303

304

305

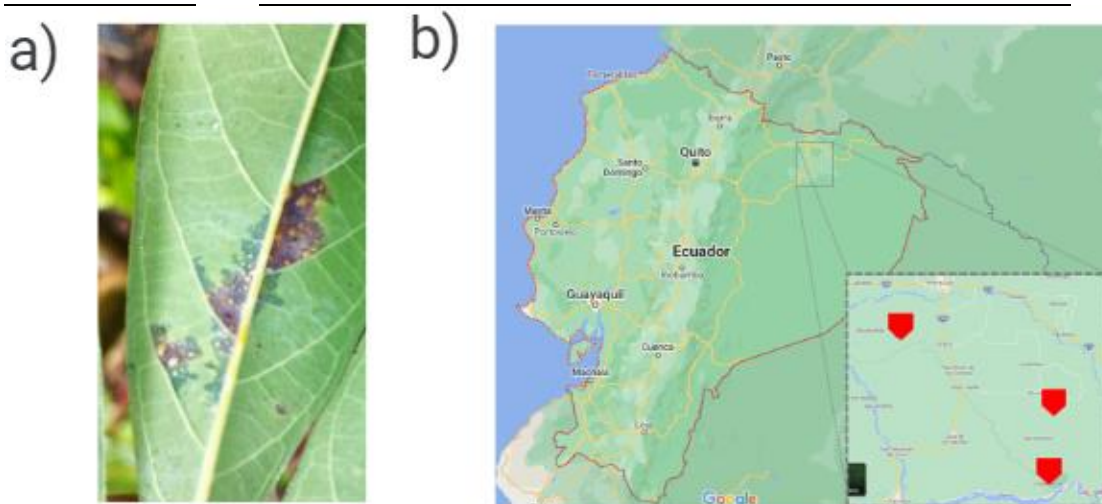
306

307 \* Las tablas y figuras se encuentran separadas del texto, por especificaciones de la  
 308 revista.

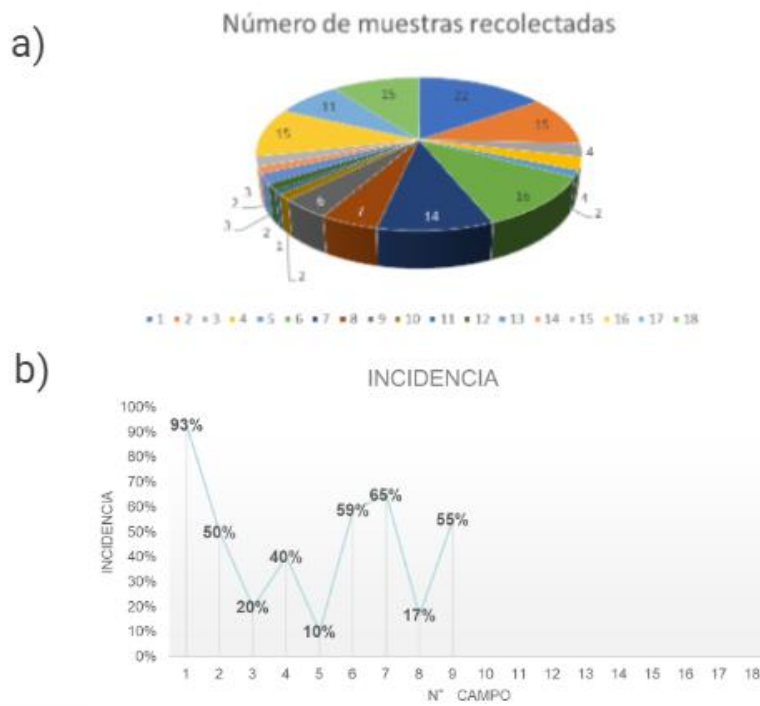
309 **Tabla 1. Presencia e Incidencia de CBB en los campos analizados**  
 310 **en la provincia de Sucumbíos, Ecuador (Continuación).**

311

N° de campo	Latitud	Longitud	Presencia de CBB
Campo 11	-0.385409	-76.651958	Positivo
Campo 12	-0.385336	-76.638846	Positivo
Campo 13	-0.421419	-76.631008	Positivo
Campo14	-0.438026	-76.63253	Positivo
Campo 15	-0.431825	-76.625578	Positivo
Campo 16	-0.382033	-76.633812	Positivo
Campo 17	-0.382241	-76.633933	Positivo
Campo 18	-0.401028	-76.625805	Positivo



313 **Figura 1. Lesiones angulares observadas en las muestras**  
 314 **recolectadas. a) Síntomas visibles de la enfermedad en una muestra recolectada. b)**  
 315 **Área muestreadas en la provincia de Sucumbíos.**



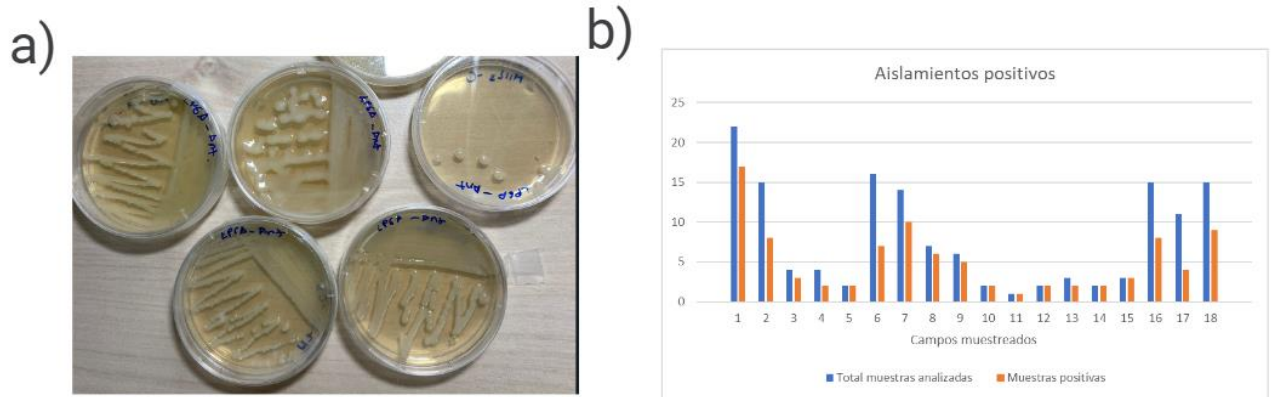
316

317 **Figura 2. Número de muestras recolectadas por cada campo y sus**  
318 **atributos. a)** Número de muestras recolectadas por cada campo **b)** Variedades  
319 de yuca a la que pertenecen las muestras recolectadas.

320

321

322



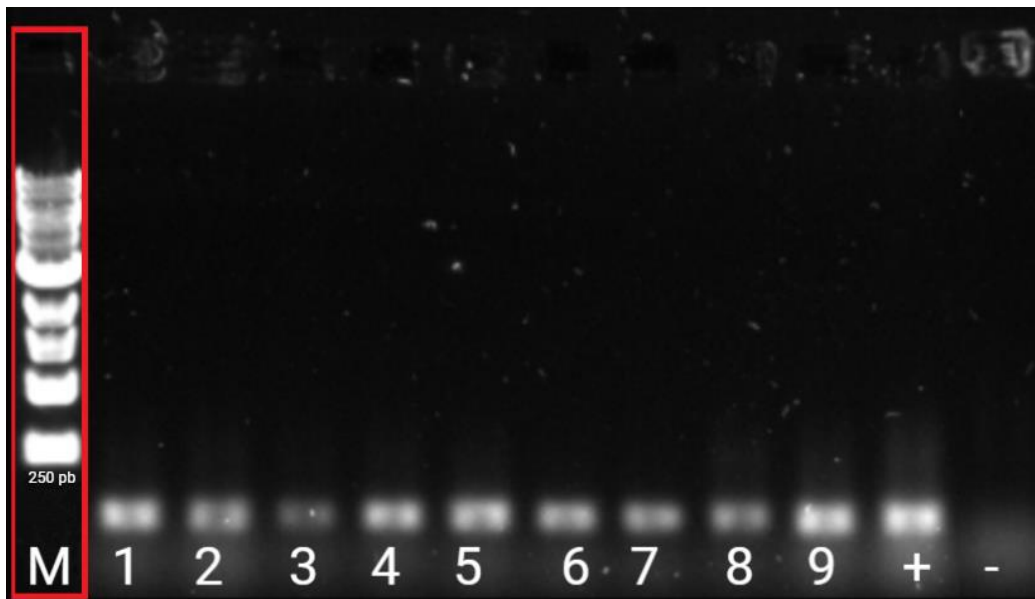
323

324 **Figura 3. Colonias aisladas de xpm.** a) Muestras representativas de los

325 aislamientos en medio sólido. b) Resumen los datos de los aislamientos realizados

326

327



328

329 **Figura 4. Gel de electroforesis en agarosa de los productos de PCR**

330 **dúplex.** Carril M, DNA marcador de peso molecular 1000 bp (Biolabs); Carriles 1

331 al 9: muestras analizadas; Carril +; Carril - control negativo con agua.