

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.  
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), mayo-junio 2025,  
Volumen 9, Número 3.

[https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v9i1](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i1)

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y  
MOLECULAR DE FITOPATÓGENOS CAUSANTES  
DE PUDRICIÓN DEL TALLO EN *NICOTIANA  
TABACUM* L.**

**MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR  
CHARACTERIZATION OF PHYTOPATHOGENS CAUSING  
STEM ROT IN *NICOTIANA TABACUM* L.**

**Johana Carolina Guanoquiza Calero**

Universidad Técnica Estatal de Quevedo – Ecuador

**Emilio Ramiro Freire Vaca**

Universidad Técnica Estatal de Quevedo – Ecuador

**Joselyn Jacqueline Quintana Zambrano**

Universidad Técnica Estatal de Quevedo - Ecuador

DOI: [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v9i3.17723](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i3.17723)

## Caracterización morfológica y molecular de fitopatógenos causantes de pudrición del tallo en *Nicotiana tabacum* L.

**Johana Carolina Guanoquiza Calero<sup>1</sup>**[carolina.guanoquiza2015@uteq.edu.ec](mailto:carolina.guanoquiza2015@uteq.edu.ec)<https://orcid.org/0009-0003-1072-0642>Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
Quevedo, Ecuador**Emilio Ramiro Freire Vaca**[emilio.freire2015@uteq.edu.ec](mailto:emilio.freire2015@uteq.edu.ec)<https://orcid.org/0009-0002-1741-048X>Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
Quevedo, Ecuador**Joselyn Jacqueline Quintana Zambrano**[joselyn.quintana2014@uteq.edu.ec](mailto:joselyn.quintana2014@uteq.edu.ec)<https://orcid.org/0009-0008-8893-5949>Universidad Técnica Estatal de Quevedo  
Quevedo, Ecuador

### RESUMEN

La pudrición del tallo en *Nicotiana tabacum* L. representa un problema fitosanitario que afecta el desarrollo y rendimiento del cultivo. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar los fitopatógenos asociados a esta enfermedad mediante métodos morfológicos y moleculares. Se recolectaron muestras de tallos con síntomas en la Tabacalera San Carlos. El aislamiento se realizó en medios de cultivo PDA (hongos) y agar nutritivo (bacterias) seguido de una purificación. La caracterización morfológica permitió observar estructuras reproductivas como microconidios, macroconidios y clamidosporas en el caso del hongo, así como determinar la reacción de Gram y la morfología celular en las bacterias. Para la identificación molecular, se amplificó y secuenció la región ITS para hongos y el gen 16S rRNA para bacterias. Los resultados reflejaron la presencia de *Fusarium oxysporum* con un 99.85 % de similitud y 100 % de identidad (accesión MN417196.1) y *Enterobacter hormaechei* con un 99.80 % de similitud y 100 % de identidad (accesión CP017186.1). La identificación precisa de estos patógenos permitirá desarrollar estrategias de manejo fitosanitario más eficaces y responsables con el ambiente.

**Palabras claves:** aislamiento, patógenos, marchitamiento, Solanáceas

---

<sup>1</sup> Autor principal

Correspondencia: [carolina.guanoquiza2015@uteq.edu.ec](mailto:carolina.guanoquiza2015@uteq.edu.ec)

## **Morphological and molecular characterization of phytopathogens causing stem rot in *Nicotiana tabacum* L.**

### **ABSTRACT**

Stem rot in *Nicotiana tabacum* L. represents a phytosanitary problem that affects the development and yield of the crop. The objective of this study was to isolate and identify the phytopathogens associated with this disease using morphological and molecular methods. Symptomatic stem samples were collected from the San Carlos Tobacco Company. Isolation was carried out using PDA medium (for fungi) and nutrient agar (for bacteria), followed by purification. Morphological characterization allowed observation of reproductive structures such as microconidia, macroconidia, and chlamydospores in the case of the fungus, as well as determination of Gram reaction and cell morphology in the bacteria. For molecular identification, the ITS region was amplified and sequenced for fungi, and the 16S rRNA gene for bacteria. The results revealed the presence of *Fusarium oxysporum* with 99.85% similarity and 100% identity (accession MN417196.1), and *Enterobacter hormaechei* with 99.80% similarity and 100% identity (accession CP017186.1). The accurate identification of these pathogens will allow the development of more effective and environmentally responsible phytosanitary management strategies.

**Keywords:** isolation, pathogens, wilting, Solanaceae

*Artículo recibido 15 marzo 2025*

*Aceptado para publicación: 15 abril 2025*



## INTRODUCCIÓN

*Nicotiana tabacum* L., es uno de los cultivos agrícolas no alimentarios de mayor impacto económico a nivel mundial de las que solo se comercializa su hoja (Berbecé & Matyka, 2020; García-Bernal et al., 2025). Su producción se ve comprometida por la presencia de enfermedades fúngicas, bacterianas, nematológicas y virales (Oliveira Rosa et al., 2025) que afectan raíces, tallos y hojas en distintas etapas del desarrollo, causando síntomas de marchitez, necrosis, decoloración, retraso en el crecimiento e incluso la muerte de las plantas (Tong et al., 2024)

Con el objetivo de reducir las pérdidas, se han adoptado diversas estrategias como la rotación de cultivos, tratamientos químicos, mejoramiento genético, control biológico e identificaron molecular (Tong et al., 2024). En Ecuador los estudios enfocados en la identificación de agentes causales de enfermedades en los cultivos son escasos, lo cual dificulta el reconocimiento oportuno, y conlleva a la aplicación de prácticas de manejo inadecuadas (Espinoza Castro et al., 2023).

La identificación precisa de fitopatógenos es crucial para implementar estrategias efectivas de manejo en los cultivos. Inicialmente, se recurre a la caracterización morfológica, observando características coloniales en medios de cultivo específicos y evaluando la morfología celular mediante tinción de Gram y análisis microscópico, lo que permite una clasificación preliminar (Agarwal et al., 2020). Debido a que muchas especies pueden presentar morfologías similares, se requiere complementar con técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando genes conservados como el 16S rRNA para bacterias o la región ITS en hongos, lo que permite una identificación más precisa mediante análisis filogenéticos (Weisburg et al., 1991).

El objetivo de este estudio fue aislar e identificar, mediante análisis morfológicos y moleculares, al agente causal de la pudrición del tallo en *Nicotiana tabacum* L., a partir de muestras recolectadas en la Tabacalera San Carlos, con el propósito de establecer una base sólida que contribuya a un manejo fitosanitario más eficiente en el cultivo.

## METODOLOGÍA

La investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, de tipo descriptivo y de diseño experimental. El estudio se realizó en condiciones controladas, la población de estudio correspondió a plantas con síntomas visibles de enfermedades radicales y foliares.

### **Recolección de muestras**

La recolección se llevó a cabo en una plantación de tabaco perteneciente a la Tabacalera San Carlos, ubicada en la parroquia San Carlos, cantón Quevedo, provincia de Los Ríos (Ecuador). En el sitio se identificó un lote de plantas con síntomas evidentes de marchitamiento, necrosis y pudrición de raíces y tallos. Se seleccionaron varias plantas completas con dichos signos, las cuales fueron colocadas en fundas Ziploc, rotuladas con fecha y características observadas, y luego transportadas al Laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ).

Para la identificación morfológica, las muestras fueron procesadas en dicho laboratorio, mientras que para la identificación molecular fueron enviadas al laboratorio IDGen, en la ciudad de Quito, donde se realizaron la extracción de ADN, la amplificación por PCR, la secuenciación y el análisis bioinformático.

### **Aislamiento de agentes patogénicos**

La parte seleccionada del material vegetal a usar fueron los tallos, se realizaron cortes de cinco centímetros y posterior a ello se realizó una desinfección superficial con hipoclorito de sodio al 1% por 1 minuto y luego se enjuagó tres veces con agua destilada estéril. Los fragmentos de tallos fueron depositados en dos medios de cultivos, PDA (hongos) y Agar nutritivo (bacterias). Se incubó a una temperatura de  $26 \pm 2$  °C por 5 a 7 días, tiempo donde se puede observar el crecimiento de colonias.

### **Purificación de cultivos**

Se seleccionaron colonias representativas para replicar en nuevas cajas Petri con medios de cultivos frescos, y se incubó bajo condiciones óptimas de temperatura. Tras la incubación, se verificó que la nueva placa contenga solo una colonia predominante, lo que indica que el cultivo está puro. Si se detectaba contaminación, se repetía el proceso hasta obtener cultivos puros.

### **Cultivo en medio CPG y caracterización colonial**

Las bacterias patógenas purificadas fueron inoculadas en medio líquido CPG (10 g/L de bactopectona, 1 g/L de extracto de levadura, 1 g/L de casaminoácidos y 2.5 mL de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio al 1%) según Khokhani et al. (2018) Las inoculaciones se realizaron en tubos de ensayo, que fueron incubados a 28 °C durante 48 horas. Posteriormente, se evaluaron características macroscópicas como

la turbidez, coloración del medio por reducción del tetrazolio, y formación de sedimento, como parte de la caracterización colonial.

### **Caracterización morfológica**

Para la identificación morfológica de los hongos, se preparó una suspensión de esporas utilizando agua destilada estéril y un asa microbiológica para cubrir completamente la placa colonizada. La suspensión fue teñida con azul de tripán para facilitar la observación de las estructuras reproductivas como macroconidios, microconidios y clamidosporas (Murugan et al., 2020) La muestra fue colocada en un portaobjetos y visualizada bajo un microscopio a 40X con aceite de inmersión para una observación detallada.

En la identificación morfológica de las bacterias se realizó un frotis bacteriano de las colonias puras sobre portaobjetos utilizando una pipeta estéril para transferir una pequeña cantidad de la colonia seleccionada. Con la ayuda de un asa bacteriológica estéril, se extendió la muestra de forma uniforme sobre el portaobjetos, asegurando que quedara una capa delgada de bacterias. Posteriormente, el frotis se sometió a una tinción de Gram. Para ello, se aplicaron los reactivos correspondientes (cristal violeta, yodo, alcohol y safranina) siguiendo el protocolo estándar de la tinción descrita por López-Jácome et al. (2014). Después de la tinción, se dejó secar el portaobjetos y se observó bajo el microscopio óptico utilizando un lente de 100X con aceite de inmersión para un mejor enfoque. Esta tinción permitió determinar si las bacterias eran Gram positivas (color púrpura) o Gram negativas (color rosado).

### **Caracterización molecular**

La identificación molecular de los aislados bacterianos y fúngicos fue realizada en el laboratorio IDGEN (Quito, Ecuador), especializado en análisis genético. Para ello, se empleó la técnica de barcoding molecular, utilizando los genes 16S rRNA para bacterias y EF1- $\alpha$  para hongos. Las muestras procesadas incluyeron cultivos bacterianos líquidos y aislados fúngicos en cajas Petri. La extracción de ADN se realizó por métodos convencionales a partir de 100 mg de muestra.

La calidad e integridad del ADN extraído fue evaluada mediante espectrofotometría de microvolúmenes y electroforesis en gel de agarosa. El ADN se diluyó hasta una concentración de 20 ng/ $\mu$ L antes de su amplificación mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando los primers universales

27F/1492R para el gen 16S rRNA en bacterias (Weisburg et al., 1991) y EF1/EF2 para el gen EF1- $\alpha$  en hongos (O'Donnell et al., 1998).

Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados mediante el método Sanger. Posteriormente, las secuencias fueron limpiadas y ensambladas con software bioinformático especializado.

### **Análisis de datos**

La identificación taxonómica se realizó mediante comparación con la base de datos de nucleótidos del GenBank del NCBI, utilizando el algoritmo BLAST. Las secuencias de mayor calidad fueron seleccionadas para el ensamblaje final, y aquellas con baja cobertura o calidad fueron excluidas del análisis. Para la identificación de hongos, se emplearon secuencias del marcador EF1- $\alpha$ , mientras que para las bacterias se utilizó el marcador 16S rRNA. Una vez identificados los patógenos, se procedió a la interpretación de los resultados para determinar la presencia de estos agentes en las muestras de cultivo.

## **RESULTADOS**

### **Caracterización morfológica**

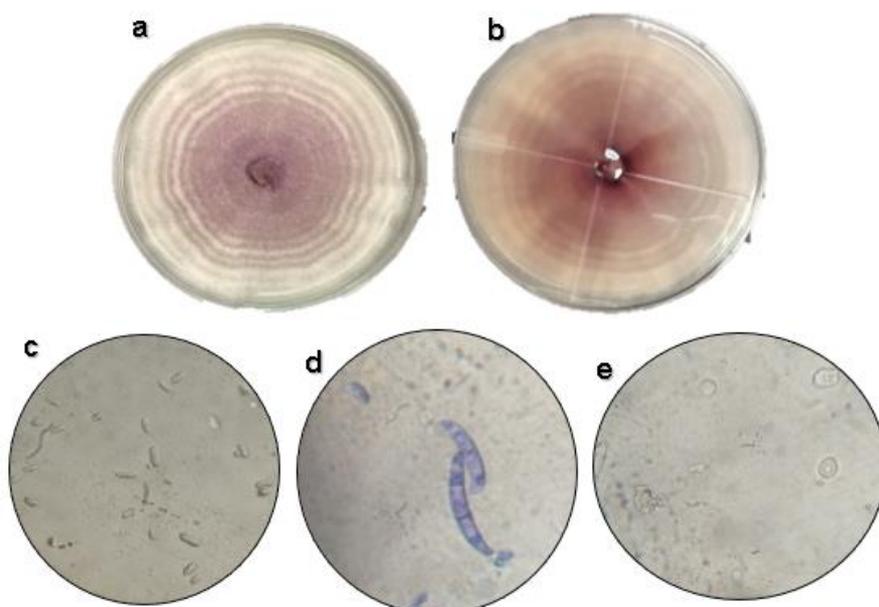
Los aislamientos fúngicos realizados en medio de cultivo PDA mostraron un crecimiento micelial denso con textura algodonosa, inicialmente de tonalidad blanco-púrpura. A medida que avanzó la incubación, se intensificó la pigmentación púrpura en la zona central de las colonias, mientras que los márgenes conservaron una coloración más clara (Figura 1; Tabla 1), características compatibles con especies del género *Fusarium*.

En cuanto a los aislamientos bacterianos, la prueba de tinción de Gram reveló bacilos Gram negativos, evidenciados por la coloración rojiza (Figura 2A). Adicionalmente, la prueba con cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) mostró un cambio a rojo intenso (Figura 2B), indicando la capacidad de reducir este compuesto, una propiedad típica de enterobacterias. Las colonias observadas en medio nutritivo presentaron forma circular, superficie lisa, bordes regulares y tamaño pequeño (Figura 2C), características coherentes con bacterias del grupo *Enterobacteriaceae*.

**Tabla 1.** Características fenotípicas del hongo aislado

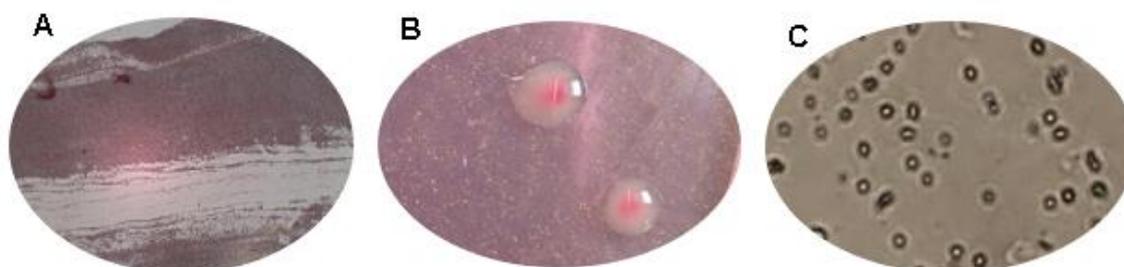
Cepa	Micelio	Coloración	Grupo aromático	Forma de macroconidias	Forma de microconidias
Fosc 1	Algodonoso	Blanca con pigmentación violeta	Odoratum	Ligeramente curvos	Ovalados

**Figura 1.** Observación Macroscópica y Microscópica de las características morfológicas de las cepas fúngicas aisladas



*Nota:* Crecimiento de las colonias (a y b), características morfológicas de los microconidios (c), macroconidios (d) y clamidósporas (e) del hongo *Fusarium* aislado de plantas de tabaco.

**Figura 2.** Resultados de tinción de Gram (A) morfología de la colonia (B) y morfología de la bacteria

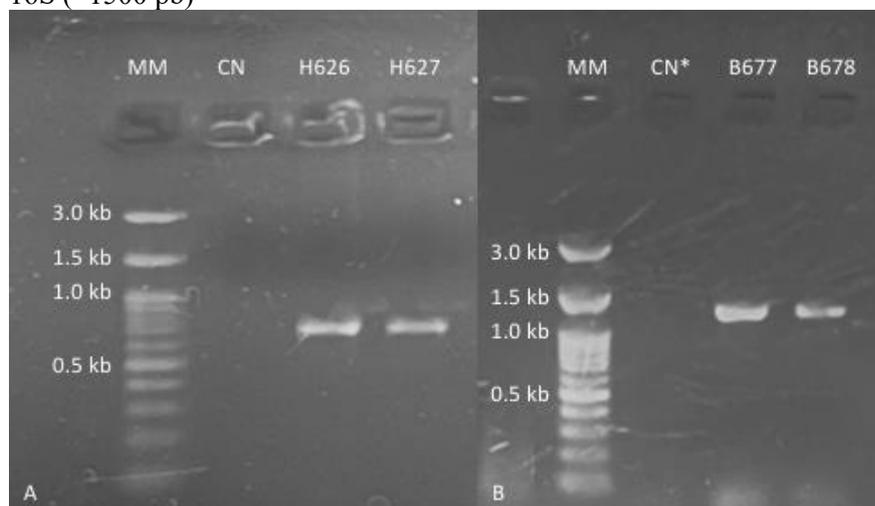


### Identificación molecular

El ADN genómico fue extraído con éxito a partir de cultivos puros. La calidad e integridad del ADN se comprobó mediante espectrofotometría y electroforesis en gel de agarosa. La amplificación por PCR generó bandas claras y definidas: aproximadamente 850 pb para hongos con el marcador EF1- $\alpha$  y 1500 pb para bacterias con el marcador 16S rRNA (Figura 3). Posteriormente, los productos fueron

secuenciados mediante el método Sanger, y las secuencias ensambladas se compararon con la base de datos GenBank del NCBI utilizando el algoritmo BLAST, lo cual permitió determinar la identidad específica de los aislados (Tabla 2)

**Figura 3.** Gel de agarosa al 1% con productos de PCR para A) marcador EF1- $\alpha$  (~850 pb) y B) marcador 16S (~1500 pb)



Nota: MM = marcador de peso molecular; CN = control negativo EF1- $\alpha$ ; CN = control negativo 16S.

**Tabla 2.** Resultados de la identificación molecular de aislamientos fúngico y bacteriano mediante comparación en GenBank

Código	Tipo de aislamiento	Procedencia de la muestra	Numero de accesoión (GenBank)	Max. punt.	Iden. Máx.	Identificación final
Fosc 1	Hongo ( <i>Fusarium</i> )	Tabacalera San Carlos	MN417196.1	99.85 %	100 %	<i>Fusarium oxysporum</i>
Bac 1	Bacteria ( <i>Enterobacteria</i> )	Tabacalera San Carlos	CP017186.1	99.80 %	100 %	<i>Enterobacteria homaechei</i>

## DISCUSIÓN

La caracterización morfológica de los aislamientos fúngicos reveló características compatibles con especies del género *Fusarium*, evidenciadas por la textura algodonosa y de tonalidades purpuras en el centro, estas observaciones coinciden con Murugan et al. (2020), quienes describen los aislamientos de *Fusarium* con micelio blanco a rosado y pigmentaciones púrpuras o anaranjadas, así como estructuras esporales similares: macroconidios de forma de hoz con 3 a 5 septos y microconidios ovalados y unicelulares. De manera similar, un estudio realizado en cultivos de *Nicotiana tabacum* en la provincia de Granma, Cuba, se caracterizó aislamientos de *Fusarium* teniendo variabilidad en la pigmentación sobre medio PDA, desde blanco hasta cremoso y violeta, además de colonias con textura algodonosa, bordes regulares y formación de macroconidios de tamaño comparable (Sosa Sánchez et al., 2022).

Los aislados bacterianos mostraron características propias de *Enterobacterias*, como la coloración Gram negativa y la reducción del TTC, lo cual concuerda con lo señalado por Retana et al., (2019) quienes identificaron a *Enterobacter hormaechei* como agente causal de pudriciones en tallos de *Hylocereus costaricensis*, las bacterias presentaron forma de bacilos, reacción catalasa positiva, oxidasa negativa y capacidad para fermentar carbohidratos con producción de gas. Asimismo, Puerta y Mateos (2010) describen a las enterobacterias como organismos móviles, aerobios facultativos y capaces de fermentar glucosa. Por otro lado, la bacteria exhibió una forma completa y circular con tamaño reducido, lo cual concuerda con la morfología típica de especies del género *Enterobacter* (Morales-López et al., 2019). Respecto al análisis molecular, la obtención de una banda de aproximadamente 859 pares de bases tras la amplificación con cebadores específicos para hongos indica la existencia de ADN característico del género *Fusarium* en la muestra evaluada (Salazar-González et al., 2016), lo cual corrobora la identificación molecular y apunta a que el hongo aislado corresponde al género *Fusarium*, coincidiendo particularmente con las características atribuidas a la raza 1 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, descritas por Kleczewski y Egel (2011). Por otro lado, la identificación de la bacteria se fortaleció mediante PCR con primers dirigidos al gen 16S, lo que permitió confirmar la presencia de bacterias del género *Enterobacter* en la muestra analizada (Retana-Sánchez et al., 2019). La morfología es una herramienta útil para una aproximación inicial en la identificación de patógenos, dada la posible similitud entre especies morfológicamente cercanas, se hace evidente complementarlo con herramientas moleculares.

## CONCLUSIÓN

La caracterización morfológica y molecular del agente causal de la pudrición del tallo en *Nicotiana tabacum* L. permitió identificar con mayor precisión el patógeno involucrado, asociado a los síntomas observados en campo. Mientras que el análisis morfológico facilitó la observación de las estructuras y características generales del microorganismo, la caracterización molecular confirmó su identidad a nivel de especie, diferenciándolo dentro de un género que puede incluir múltiples variantes. Esta identificación precisa es fundamental para que los agricultores apliquen estrategias de control fitosanitario de forma oportuna y responsable, minimizando impactos negativos sobre el ambiente y contribuyendo a un mejor manejo en la sanidad del cultivo.

## Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por facilitar el uso de los laboratorios de Biotecnología y Microbiología indispensables para el desarrollo de esta investigación. También se expresa un especial reconocimiento a los encargados de laboratorio por su valiosa asistencia técnica y a la Tabacalera San Carlos por su colaboración en la realización del muestreo en campo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, H., Dowarah, B., & Agarwala, N. (2020). A Quick Method for Screening Biocontrol Efficacy of Bacterial Isolates Against Bacterial Wilt Pathogen *Ralstonia solanacearum* in Tomato. *BIO-PROTOCOL*, 10(22). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3829>
- Berbecé, A., & Matyka, M. (2020). Biomass Characteristics and Energy Yields of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Cultivated in Eastern Poland. *Agriculture*, 10, 551. <https://doi.org/10.3390/agriculture10110551>
- Espinoza Castro, M. F., Rivera Casignia, Á. M., Rivas Figueroa, F. J., & Leiva Mora, M. (2023). Identificación y caracterización morfológica de hongos asociados a daños en tuna (*Opuntia ficus-indica*), en la provincia de Chimborazo, Ecuador. *Bionatura*, 8(3), 1-10. <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.14>
- García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Hernández, L. C., Hernández, U. Á., Ojeda-Silvera, C. M., Batista-Sánchez, D., & Mazón-Suástegui, J. M. (2025). Actinomicetos Promueven Crecimiento en Plántulas de *Nicotiana tabacum* L. *Revista terra latinoamericana*, 43. <https://doi.org/10.28940/terralatinoamericana.v43i.1981>
- Khokhani, D., Tran, T. M., Lowe-Power, T. M., & Allen, C. (2018). Plant Assays for Quantifying *Ralstonia solanacearum* Virulence. *Bio-Protocol*, 8(18). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3028>
- Kleczewski, N. M., & Egel, D. S. (2011). A Diagnostic Guide for Fusarium Wilt of Watermelon. *Plant Health Progress*, 12(1), 27. <https://doi.org/10.1094/PHP-2011-1129-01-DG>
- López-Jácome, L. E., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología*.



- Morales-López, S., Yepes, J., Prada-Herrera, J., & Torres-Jiménez, A. (2019). Enterobacteria in the 21st century: A review focused on taxonomic changes. *J Infect Dev Ctries* 2, 13(4), 265-273. <https://doi.org/doi:10.3855/jidc.11216>
- Murugan, L., Krishnan, N., Venkataravanappa, V., Saha, S., Mishra, A. K., Sharma, B. K., & Rai, A. B. (2020). Molecular characterization and race identification of *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici* infecting tomato in India. *3 Biotech*, 10(11), 486. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02475-z>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(5), 2044-2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>
- Oliveira Rosa, I. G., Ferreira Fernandes, F. I., Xavier Dourado, C. G., Figueroa Cossio, L. X., & Silva Mendes, A. L. (2025). Sintomatología y etiología de mancha foliar de tabaco (*Nicotiana tabacum*) causada por *Cercospora nicotianae*. *Observatorio de la economía latinoamericana*, 23(2), e8927-e8927. <https://doi.org/10.55905/oelv23n2-035>
- Puerta-García, A., & Mateos-Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(51), 3426. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70056-1](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70056-1)
- Retana-Sánchez, K., Castro, O., Blanco-Meneses, M., & Quesada-González, A. (2019). Etiology of stem rot on *Hylocereus* spp. Cause by *Enterobacter hormaechei* in Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 43, 61-74. <https://doi.org/10.15517/rac.v43i2.37949>
- Salazar-González, C., Serna-Cock, L., & Gómez-López, E. (2016). Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) l. *Agronomía Mesoamericana*, 27(2), 277-285.
- Sosa Sánchez, O., Romero Bastidas, M., Silva Pupo, J. J., Gaibor Fernández, R., Rodríguez Rodríguez, S., & Ceiro Catasú, W. (2022). Caracterización cultural-morfométrica como herramienta para la identificación de *Fusarium* spp., asociado a *Nicotiana tabacum* L. *Agronomía Costarricense*. <https://doi.org/10.15517/rac.v46i1.49872>

Tong, Z., Fan, Z., Du, T., Fang, D., Sui, X., Ye, C., Zhu, Q.-H., Fan, L., Xiao, B., & Shen, E. (2024). El transcriptoma dinámico revela patrones de respuesta a la enfermedad de la pierna negra en el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Stress*, *14*, 100676.

<https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100676>

Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, *173*(2), 697-703.

<https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>

