

RESUMEN

La mastitis bovina es una inflamación de las glándulas y conductos mamarios que altera el rendimiento de leche. La enfermedad es provocada principalmente por bacterias, entre las que se encuentran los bacilos Gram positivos que se encuentran típicamente en suelo, agua, polvo, aire, heces y vegetación. En la parroquia de Salinas de Guaranda, las principales actividades económicas incluyen la elaboración de productos derivados de la leche. Se ha determinado el 84.5% de prevalencia de mastitis por animal; sin embargo, no existe registro de las especies de bacilos Gram positivos asociados. Se busca identificar mediante técnicas moleculares bacilos Gram positivos aislados de muestras de leche de ganado bovino con mastitis a fin de aportar información sobre la diversidad de microorganismos asociados, para establecer programas de prevención y control. En esta investigación, se estandarizó y validó un método manual de extracción de ADN con el uso de CTAB/CAI a partir de bacilos Gram positivos aislados de leche de vacas con mastitis. Se obtuvieron las secuencias partiendo de los productos de PCR convencional del gen 16S. El análisis de homología en BLAST de once muestras determinó la presencia de tres especies: *Bacillus licheniformis* (55%), *Bacillus subtilis* (36%), *Bacillus velezensis* (9%). Con estos resultados se realizó un análisis filogenético para demostrar la cercanía evolutiva entre las especies encontradas. Con este trabajo se demostró que las bacterias que afectan al ganado lechero en la parroquia Salinas de Guaranda son ambientales, por lo que se debe mejorar las prácticas de ordeño.

PALABRAS CLAVE:

- **MASTITIS BOVINA**
- **BACILOS GRAM POSITIVOS**
- **GEN 16S**
- **ÁRBOL FILOGENÉTICO**

ABSTRACT

Bovine mastitis is an inflammation of the mammary glands and ducts that reduce milk yield. This disease is caused mainly by bacteria, like Gram-positive bacilli, which are typical in soil, water, dust, air, feces and vegetation. In Salinas de Guaranda, the main economic activities include the elaboration of milk products. The 84.5% prevalence of mastitis per animal was determined; however, there is no record of the associated Gram-positive bacilli species. The aim of this study is to identify Gram positive bacilli isolated from milk samples of cattle with mastitis using molecular techniques in order to provide information on the diversity of associated microorganisms, to establish prevention and control programs. In this research, a manual method of DNA extraction with the use of CTAB / CAI was standardized and validated from Gram positive bacilli isolated from the milk of cows with mastitis. The sequences were obtained starting from the conventional PCR products of the 16S gene. The BLAST homology analysis of eleven samples determined the presence of 3 species: *Bacillus licheniformis* (55%), *Bacillus subtilis* (36%), *Bacillus velezensis* (9%). With these results, a phylogenetic analysis was carried out to demonstrate the evolutionary proximity between the species found. This work showed that bacteria that affect dairy cattle in Salinas de Guaranda are environmental, for this is important to improve milking practices.

KEY WORDS:

- **BOVINE MASTITIS**
- **GRAM POSITIVE BACILLI**
- **16S GENE**
- **PHYLOGENETIC TREE**